الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الصيدلة

قسم الكيمياء الحيوية و الأحياء الدقيقة

مسببات التهاب المفاصل الروماتويدي في جمهرةٍ سوريةٍ: HPV-47 و HLA-II

Etiology of Rheumatoid Arthritis in Syrian Population: HLA-II and HPV-47

بحث علمي أُعِدَّ لنيل درجة ماجستير في التشخيص المخبري

إعداد

جميل مراد

إشراف

أ. د. فوزة منعم

1433 هـ 2012 م

الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

قرار مجلس البحث العلمي والدراسات العليا رقم / ٢٠٢٩ / المتخذ بالجلسة رقم /١٦/ تاريخ ٢٠١٢/٥/٧

اطلع مجلس البحث العلمي والدراسات العليا على قرار مجلس كلية الصيدلة رقم/ ٣٣٥ / تاريخ ٢٠١٢/٣/٢٩

وبعد الرجوع إلى اللائحة التنفيذية لقانون تنظيم الجامعات الصادرة بالمرسوم /٢٥٠/ لعام ٢٠٠٦ .

قرار مجلس جامعة دمشق رقم / ٧٧١٢ /ص تاريخ ٢٠٠٩/٦/٢٩ بشأن الموافقة على تسجيل رسالة الطالب

وبنتيجة المذاكرة قرر مجلس البحث العلمي والدراسات العليا :

الموافقة على تأليف لجنة الحكم على رسالة الماجستير في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة التي أعدها الطالب **جميل مراد** بعنوان : ((مسببات التهاب المفاصل الروماتيدي في جمهرة سورية HPV-47 و HLA-II)) بكلية الصيدلة من السادة الأساتذة :

د. فوزة منعم	الأستاذة في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة	كلية الصيدلة
جامعة دمشق	الاختصاص: الميكروبيولوجيا – علم الجراثيم	عضواً مشرفاً
د. خليل القوتلي	الأستاذ في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة	كلية الصيدلة
جامعة دمشق	الاختصاص : الجراثيم والمناعيات	عضواً
د. ميسون قدسي	الأستاذة المساعدة في قسم الأمراض الباطنة	كلية الطب البشري
جامعة دمشق	الاختصاص: المفاصل	عضواً

وذلك وفق ما هو وارد في قرار مجلس الكلية آنف الذكر،،،

ملاحظة: يرجى إرسال نسخة عن الإعلان الخاص بتحديد موعد المناقشة فور صدوره إلى مكتب نائب رئيس الجامعة لشؤون البحث العلمي والدراسات العليا.

قرار لجنة الحكم

السيد الأستاذ الدكتور عميد كلية الصيدلة

إشارة إلى قرار مجلس كلية الصيدلة رقم / ٢٦٢ / تاريخ ١٧/ ٢/ ٢٠٠٩ وقرار مجلس جامعة دمشق رقم / ٢٧١٢ / ص تاريخ ٩ / نيسان/ ٢٠٠٩ المتضمن الموافقة على تسجيل رسالة الماجستير لطالب الدراسات العليا الصيدلاني جميل مراد

بعنوان : مسببات الترابط المناعي الروماتيدي في الجمهورية السورية HLA-II, HPV-47

وتسمية الأستاذ الدكتور فوزة منعم مشرفا

والسيد الدكتور عضوا

وبالإشارة إلى قرار مجلس كلية الصيدلة رقم / ٥٣٢ / تاريخ ٢٩/ ٢ /٢٠١٢ وقرار مجلس البحث العلمي والدراسات العليا رقم / ٢٠٢٩/ ٢٠١٢٠٢ تاريخ ٧ / ٥ / ٢٠١٢ القاضي بتشكيل لجنة الحكم على رسالة الماجستير المقدمة من الصيدلاني جميل مراد

من الأساتذة الدكاترة :

السيد الأستاذة الدكتورة فوزة منعم عضوا مشرفا

السيد الأستاذ الدكتور خليل العقربي عضوا

السيد الأستاذ الدكتور ميمون قدسي عضوا

فقد قامت لجنة الحكم بدراسة الرسالة وحضرت جلسة الدفاع عن رسالة الماجستير المقدمة من الصيدلاني جميل مراد وذلك في تمام الساعة ١٠:٠٠ من يوم الأحد الواقع في ٢٤/ ٦ / ٢٠١٢

على مدرج تشرين في كلية الصيدلة

وبنتيجة لتقويمها وبالإشارة لما سبق فقد قرر لجنة الحكم منح الصيدلاني جميل مراد

طالب الماجستير في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة

في العلوم الصيدلية اختصاص/ التشخيص المخبري

بمرتبة الشرف ودرجة وقدرها ثمانون وتسعون ...

يرفع هذا القرار إلى مجلس كلية الصيدلة ومجلس جامعة دمشق للمصادقة عليه حسب القوانين والأنظمة المرعية.

****

الدكتور	الدكتور	الدكتور
ميمون قدسي	فوزة منعم	أ.د خليل العقربي

استغرق البحث ثلاث سنوات وذلك من عام 2009 حتى عام 2012

تم الإعتيان من المشافي التالية:

مشفى الأسد الجامعي

مشفى المواساة

مشفى ابن النفيس

أجريت المقايسات في:

مخبر الدراسات العليا في كلية الصيدلة جامعة دمشق

مخبر البيولوجيا الجزيئية في مشفى الأسد الجامعي

مركز جامعة دمشق لنقل الدم

أجريت مناقشة الرسالة:بتاريخ 24/ 2012/06

برئاسة	الفاحص الأول	الفاحص الثاني
أ.د. خليل القوتلي	أ.د. فوزة منعم	أ.م.د. ميسون قدسي

إلى سورية الحبيبة التي عشت فيها

أجمل و أغلى أيام حياتي

أهدي هذا العمل

Acknowledgement الشكر

- خالص شكري وامتناني لكل من بذل جهداً لإخراج هذا العمل بالصورة المطلوبة
- الأستاذة الدكتورة فوزة منعم التي لم تبخل بوقتها وتوجيهاتها ونصائحها لإنجاز هذا العمل.
- الأستاذة الدكتورة ميسون قدسي لتفضلها بالمشاركة في لجنة الحكم وإغناء هذا العمل بملاحظاتها القيمة.
- الأستاذ الدكتور خليل القوتلي لتفضله بالمشاركة في لجنة الحكم ومساهمته في تقييم هذا العمل وإنجاحه.
- كما أتوجه بالشكر لأسرة كلية الصيدلة بكادريها التعليمي والإداري ممثلةً بالسيد العميد الأستاذ الدكتور جمعة الزهوري ونائبيه للشؤون العلمية الأستاذة الدكتورة سحر الفاهوم والإدارية الأستاذ الدكتور سامر حيدر
- أتوجه بالشكر و الإمتنان إلى جميع أساتذتي في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة، و إلى رئاسة القسم ممثلةً بالأستاذة الدكتورة فايزة القبيلي.
- شكر من القلب إلى الأب والمعلم والأخ معالي الأستاذ عبدالرحيم مراد
- الشكر الجزيل لمركز نقل الدم في جامعة دمشق ممثلاً بالدكتورة علياء الأسد
- الشكر الجزيل لشعبة المفاصل في مشفى ابن النفيس وخاصةً الدكتور عماد حمدون
- الشكر الجزيل لشعبة المفاصل والعيادات المفصلية في مشفى المواساة
- الشكر الجزيل لشعبة المفاصل والعيادات المفصلية في مشفى الأسد الجامعي
- أشكر طاقم مخبر البيولوجيا الجزيئية في مشفى الأسد الجامعي وخاصةً الدكتورة وفاء الحبال
- أشكر أصدقائي الذين شاركتهم أجمل الأوقات

لمحة موجزة جداً عن حياة الباحث Curriculum Vitae (CV)

حصلت على شهادة البكالوريا اللبنانية فرع العلوم المخبرية عام 1999

حصلت على إجازة في الصيدلة والكيمياء الصيدلية من جامعة حلب عام 2004

انتسبت إلى نقابة صيادلة لبنان بعد اجتيازي امتحان الكولوكيوم عام 2005

تم قبولي كطالب دراسات عليا في كلية الصيدلة جامعة دمشق عام 2006

تصريح

الاسم الكامل: جميل محمد مراد
مكان و تاريخ الولادة: غزة، البقاع الغربي، لبنان 1981

عنوان البحث: مسببات التهاب المفاصل الروماتويدي في جمهرةٍ سوريةٍ: HPV-47 و HLA-II

لا يوجد أي جزء من هذه الأطروحة تم اقتباسه بالكامل من عمل علم آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في جامعة دمشق أو أية جامعة أخرى أو أي معهد تعليم داخل أو خارج القطر.

لم يتم قبض أي مبلغ مادي أو مكافأة عينية سواء بشكل مباشر أو غير مباشر مقابل القيام بعمل يمس جوهر هذه الأطروحة أو نتائجها.

أتعهد بأنني لم أقل الا الحقيقة و لم أخف شيئاً تحت طائلة المعاقبة و المحاسبة القانونية و عليه أوقع

2012 / 07 / 01

التوقيع

جميل محمد مراد

قائمة المحتويات Content List

قائمة الأشكال Figures List

قائمة الجداول Tables List

Abbreviations List قائمة الاختصارات

ACPAs	Anti-Citrullinated Peptide Antibodies
ACR	American College Of Rheumatology
AFAs	Anti-Filaggrin Autoantibodies
AIRE	Autoimmune Regulator
AKA	Anti-Keratin Antibodies
Anti-CCP	Anti-Cyclic Citrullinated Pepyide
anti-MCV	Mutated Citrullinated Vimentin
APCs	Antigen Presenting Cells
APF	Anti Prenuclear Factor
ARMS	Amplified Refractory Mutation System
AU	Arbitrary Unit
AUC	Area Under The Curve
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool Program
BPVs	Bovine Papillomaviruses
CD	Cluster Of Differentiation
CI95%	Confidence Interval 95%
CRP	C-Reactive Protein
CTLA-4	Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4
DAS28	Disease Activity Score 28
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EBVNA	Epstein-Barr Virus Nuclear Antigen
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbant Assay
ESR	Erythrocyte Sedimentation Rate
EULAR	European League Against Rheumatism
EV	Epidermodysplasia Verruciformis
Fc R	Receptor For Immunoglobulin G Fc Portion
HLA	Human Leukocyte Antigen;

HPV	Human Papilloma Virus
MHC	Major Histocompatibility Complex
NCBI	National Center For Biotechnology Information
OPD	O-Phenylenediamin
OR	Odds Ratio
PAD	Peptidyl Argenine Deiminase
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
PD-1	Programmed Cell Death 1
PTPN22	Protein Tyrosine Phosphatase 22
RA	Rheumatoid Arthritis
RF	Rheumatoid Factor
RIA	Radioimmune Assay
RNA	Ribonucleic Acid
ROC	Receiver Operating Characteristic
SE	Shared Epitope
SSO	Sequence-Specific Oligoneucleotide
SSP	Sequence-Specific Primer
STAT4	Signal Transducer And Activator Of Transcription 4
TNFAIP3	Tumor Necrosis Factor, Alpha-Induced Protein 3
TRAF1/C5	Tumor Necrosis Factor Receptor-Associated Factor 1-Complement Component 5.

المقدمة النظرية

Literature Review

1- المناعة الذاتية Autoimmunity:

تحدث الأمراض المناعية autoimmune diseases بشكل متكرر وتفرض عبئاً ثقيلاً من الاعتلالات والوفيات عند البشر.[1] تشمل أمراض المناعة الذاتية أكثر من سبعين اعتلالٍ مختلفٍ، يصيب حوالي 5% من سكان البلاد الغربية.[2]

تُعَرَّف المناعة الذاتية بأنها إستجابة مناعية autoimmune response للمستضدات الذاتية self-antigens. يمكن إثبات هذه الاستجابة المناعية بوجود أضداد ذاتية autoantibodies في الدوران، أو لمفاويات تائية متفاعلة مع المستضدات الذاتية.[3] وَضَّح Perl أن المناعة الذاتية هي نتيجة انهيار واحد أو أكثر من آليات التَحَمُّل المناعي.[4] كما أنَّ أمراض المناعة الذاتية تُحْدِث أضراراً نسيجية مستمرة outgoing tissue damage بسبب الاستجابة المناعية لمستضدات ذاتية نوعية.[1]

يُمْكِن تصنيف أمراض المناعة الذاتية تبعاً لما تستهدفه من المستضدات الذاتية، إلى عمليات مناعية ذاتية autoimmune processes نوعية لعضو معين organ-specific أو جهازية systemic (الجدول1).[5]

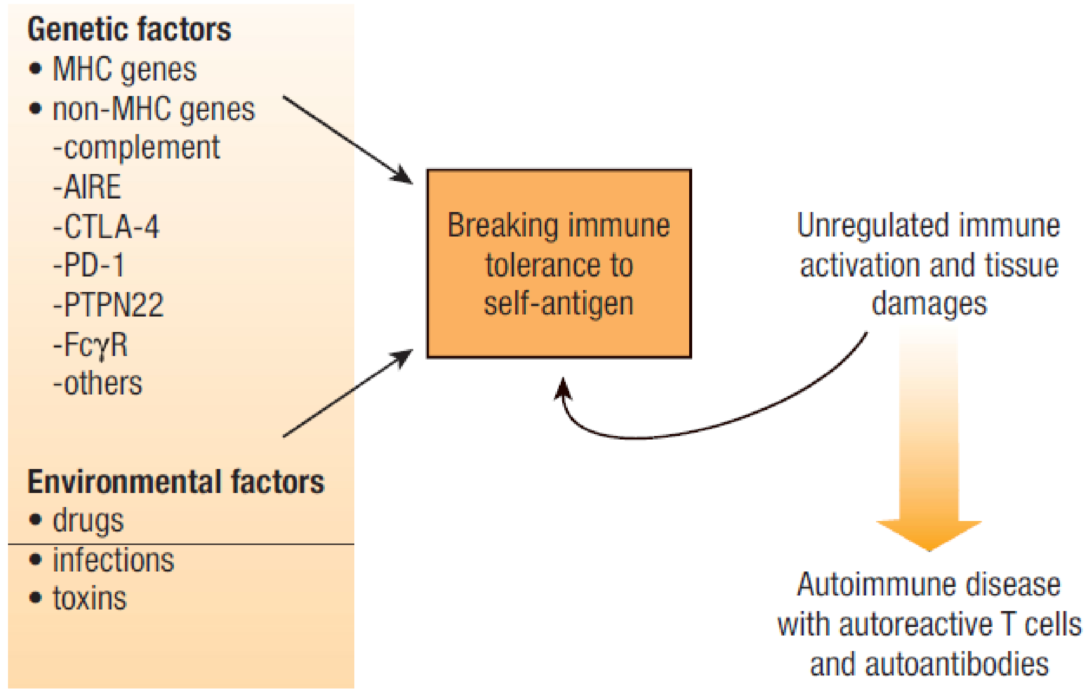
جدول 1: تصنيف بعض أمراض المناعة الذاتية Classification of some autoimmune diseases:

Organ Specific	
Graves' disease	Vitiligo
Hashimoto's thyroiditis	Autoimmune hemolytic anemia
Autoimmune polyglandular syndrome	Autoimmune thrombocytopenic purpura
Type 1 diabetes mellitus	Pernicious anemia
Insulin-resistant diabetes mellitus	Myasthenia gravis
Immune-mediated infertility	Multiple sclerosis
Autoimmune Addison's disease	Guillain-Barré syndrome
Pemphigus vulgaris	Stiff-man syndrome
Pemphigus foliaceus	Acute rheumatic fever
Dermatitis herpetiformis	Sympathetic ophthalmia
Autoimmune alopecia	Goodpasture's syndrome
Organ Nonspecific (Systemic)	
Systemic lupus erythematosus	Wegener's granulomatosis
Rheumatoid arthritis	Antiphospholipid syndrome
Systemic necrotizing vasculitis	Sjögren's syndrome

اقتبس من Lipsky وDiamond 2008 [6]

1-1- العوامل التي تسبب أمراض المناعة الذاتية:

تعمل عوامل متعددة، بما فيها العوامل الجينية و البيئية (الشكل1)، بتناغم لإبطال آليات التَحَمِّل المناعي الذاتية وإظهار الصفات المميزة للمرض وأهمها التفعيل المناعي غير المنظم تجاه المستضدات الذاتية والتخريب النسيجي اللاحق.[5]



الشكل 1: آليات تطوير الأمراض المناعية الجهازية

receptor for immunoglobulin G Fc =cytotoxic T-lymphocyte antigen-4; Fc R =autoimmune regulator; CTLA-4 =AIRE protein tyrosine =programmed cell death 1; PTPN22 =major histocompatibility complex; PD-1 =portion; MHC phosphatase 22.

اقتبست من Kang وCraft 2008 [5]

1-2- الآلية الإمراضية للمناعة الذاتية:

يمتلك جهاز المناعة الطبيعي ثلاثة خصائص: ذخيرة عالية التَنَوُّع من مستقبلات المستضدات التي تسمح بالتعرف على عدد لانهائي من العوامل الممرضة، وذاكرة مناعية لإرساء استذكار سريع للإستجابة المناعية وتحمل مناعي لمنع التخريب المناعي للمستضدات الذاتية الطبيعية.[7] يعتقد حالياً أن ثلاث عمليات تتدخل في المحافظة على عدم الإستجابة للمستضدات الذاتية:

1- احتجاز المستضدات الذاتية، بجعلها غير متاحة للجهاز المناعي
2- عدم استجابة نوعية (تحمُّل tolerance واستعطال anergy) للخلايا التائية والبائية
3- تحديد limitation التفعيل المحتمل بالآليات التنظيمية (الجدول 2).[6]

يمكن للاختلال في هذه العمليات الطبيعية المناعية أن يؤهب تطوُّر المناعة الذاتية.

جدول 2: الآليات التي تكبح المناعة الذاتية:

1. احتجاز المستضدات الذاتية	1. Sequestration of self-antigen
2. توليد والمحافظة على التَحَمُّل	2. Generation and maintenance of tolerance
a. تخلص مركزي من اللمفاويات المفعَّلة ذاتياً	a. Central deletion of autoreactive lymphocytes
b. استعطال محيطي للمفاويات المفعَّلة ذاتياً	b. Peripheral anergy of lymphocytes autoreactive
c. استبدال مستقبليّ من اللمفاويات المفعَّلة ذاتياً	c. Receptor replacement by autoreactive lymphocytes
3. آليات تنظيمية	3. Regulatory mechanisms

اقتبس من Lipsky وDiamond 2008 [6]

ترتبط الاستجابات المناعية غير الطبيعية بتحريض من عوامل خارجية exogenous agents عادةً جرثومية أو فيروسية، أو اضطرابات داخلية endogenous abnormalities في خلايا الجهاز المناعي (الجدول 3).[6]

جدول 3: آليات المناعة الذاتية:

I. خارجية	**I. Exogenous**
A. التمويه الجزيئي	A. Molecular mimicry
B. التنبيه المستضدي الفوقي	B. Superantigenic stimulation
C. المساندة الميكروبية	C. Microbial adjuvanticity
II. داخلية	**II. Endogenous**
A. تعديل/خلل في التقديم المستضدي	A. Altered antigen presentation
1. خسارة الامتياز المناعي	privilege 1. Loss of immunologic
2. تقديم حاتمات جديدة أو خبيئية (نشر الحاتمات)	2. Presentation of novel or cryptic epitopes (epitope spreading)
3. تعديل/خلل في المستضدات الذاتية	3. Alteration of self-antigen
4. تعزيز وظيفة الخلايا المقدمة للمستضد	4. Enhanced function of antigen-presenting cells
a. تعبير الجزيئات على التنبيه المتشارك	a. Costimulatory molecule expression
b. إفراز السيتوكينات	b. Cytokine production
B. تزايد مساعدة الخلايا التائية	B. Increased T cell help
1. إفراز السيتوكينات	1. Cytokine production
2. الجزيئات المساعدة على التنبيه	2. Costimulatory molecules
C. زيادة في وظيفة الخلايا البائية	C. Increased B cell function
D. عيوب الاستموات الخلوي	D. Apoptotic defects
E. عدم التوازن السيتوكيني	E. Cytokine imbalance
F. تعديل في التنظيم المناعي	F. Altered immunoregulation

اقتبس من Lipsky وDiamond 2008 [6]

2- التهاب المفاصل الروماتويدي Rheumatoid Arthritis (RA):

يعتبر التهاب المفاصل الروماتويدي من الأمراض غير القابلة للشفاء[8] وغَيْرَوِيٌّ/متعدد المَنْشَأ very heterogeneous، ونتائجه صعبة التنبؤ.[9] يعدُّ هذا المرض من أهم الأمراض الاتهــابية التي تصــيب المفاصــل.[9] لا يزال تعريـف الـ RA غير دقيـق،[9] لكنه عادةً ما يوصف بمرض التهابي مناعي ذاتي جهازي مُتَرَقٍّ progressive systemic autoimmune inflammatory disease، يستهدف الأنسجة الزليلة synovial tissues.[10, 11] يتميز بأنه التهاب مفصلي مزمن مؤلم، يسبب التهاب الزليل synovitis، وتخريب مترقٍّ في الغضروف والعظام مؤدياً إلى عجزٍ وظيفي.[12, 13]

يصيب التخريب المفصلي بشكل رئيسي المفاصل الصغيرة في اليدين والقدمين (الشكل2)، لكن يمكن إصابة المفاصل الكبيرة مع تقدم المرض.[14]

الشكل 2: تشوهات في اليدين بسبب التهاب المفاصل الروماتويدي
اقتبس من Jeffery 2010 [15]

2-1- الوبائية Epidemiology:

تُظهر الدراسات اختلافات في معدل حدوث الإصابة بالتهاب المفاصل الروماتويدي ومدى انتشاره. يعزى هذا الاختلاف إلى تعدد الطرق الإحصائية المتبعة وتنوع معايير تحري الحالات الشاذة case-ascertainment criteria.[16]

2-2- مُعدَّل حدوث التهاب المفاصل الروماتويدي ومدى انتشاره وتوزعه الجغرافي:

يقدر مُعدَّل حدوث incidence التهاب المفاصل الروماتويدي عالمياً بـ 3 حالات لكل 10,000 فرد.[17] يتفاوت هذا المُعدَّل في المجتمعات المختلفة، حيث يقدر في شمال أمريكا و شمال أوروبا بـ 25-50 حالة لكل 100,000 من السكان، و بمعدل أقل في أوروبا الجنوبية 9-24 حالة لكل 100,000 من السكان. ولا يزال معدل حدوث المرض غير معلوم في الدول النائية.[14, 16]

أظهرت الدراسات أن معدل انتشار (prevalence) الـ RA في شمال أمريكا وشمال أوروبا يقدر بـ 0.5-1.1%، ومعدل أقل في جنوب أوروبا 0.3-0.7% وفي الدول النائية 0.1-0.5% (الجدول4)،[16] ويقدر انتشاره عالمياً بـ 1%.[17, 18]

يختلف معدل حدوث ومدى انتشار التهاب المفاصل الروماتويدي تبعاً لبعض المجموعات العرقية في بعض المناطق الجغرافية. كذلك يختلف معدل حدوث ومدى انتشار الـ RA ضمن العرق الواحد حسب توزعه الجغرافي.[16]

جدول 4: معدل حدوث ومدى انتشار التهاب المفاصل الروماتويدي في العالم (حالة لكل مئة من المقيمين):

Population		Prevalence Rates	Incidence Rates
North America	USA (general population)	0.9–1.1	0.02–0.07
	USA (native-Americans)	5.3–6.0	0.09–0.89
North Europe	England	0.8–1.10	0.02–0.04
	Finland	0.8	0.03–0.04
	Sweden	0.5–0.9	
	Norway	0.4–0.5	0.02–0.03
	Netherlands	0.9	0.05
	Denmark	0.9	
	Ireland	0.5	
	Lithuania	0.0–1.56	
South Europe	Spain	0.5	
	France	0.6	0.01
	Italy	0.3	
	Greece	0.3–0.7	0.02
	Yugoslavia	0.2	
South America	Argentina	0.2	
	Brazil	0.5	
	Colombia	0.1	
Asia	Japan	0.3	0.04–0.09
	China	0.2–0.3	
	Taiwan		0.3
	Indonesia	0.2–0.3	
	Philippines	0.2	
	Pakistan	0.1	
Middle East	Egypt	0.2	
	Oman	0.4	
	Kuwait	1.26	
	Turkey	0.5	
Africa		0–0.3	

اقتبس من Alamanos وDrosos 2005[19] وCarmona وزملاؤه 2010[20]

3-2- مُعَدَّلُ الوَفَيات Mortality:

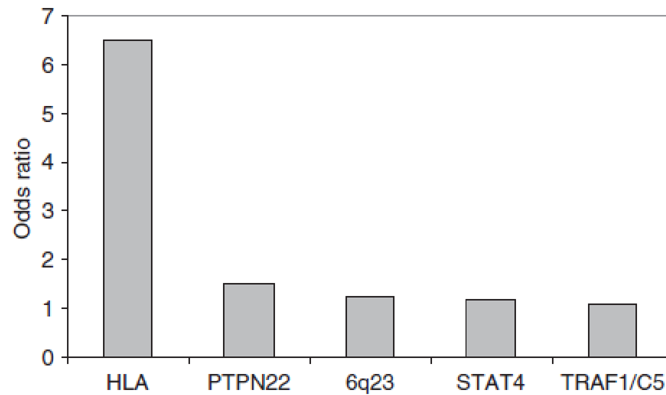
يُعد مُعَدَّلُ الوَفَيات لدى مرضى الـ RA أعلى منه عند عامة السكان، إذ ينخفض مأمول الحياة life expectancy بحوالي 3 إلى 10 سنوات.[16, 20] تُعتبر الأمراض القلبية الوعائية، والعداوية، والدموية، والهضمية، والمضاعفات الرئوية، الأسباب الرئيسية المؤدية لوفاة مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي.[16]

4-2- عوامل إختطار الإصابة بالتهاب المفاصل الروماتويدي:

يعتبر التهاب المفاصل الروماتويدي مرض متعدد العوامل multifactorial disease نتيجةً لتآثر العوامل الجينية والبيئية.[16]

1-4-2- العوامل الجينية Genetic Factors:

توجد عدة أدلة على علاقة العوامل الجينية بحدوث ووخامة التهاب المفاصل الروماتويدي.[19] تساعد الدراسات الجينية على تعيين الجينات الرئيسية والسُّبُل المَعنِيَّة في ابتداء المرض.[21] قُدِّرت القدرة التوارثية للـ RA في دراسات سابقة بحوالي 60%.[22] تعد جينة الـ HLA-DRB1 في معقد النسيج التوافقي الجينة الأكثر ضلوعاً بالتهاب المفاصل الروماتويدي[16] (الشكل3)، حيث تساهم بنسبة أكثر من الثلث في التأهيب الجيني للـ RA.[16, 23]



الشكل 3: مساهمة عوامل الاختطار الجينية في التهاب المفاصل الروماتويدي.

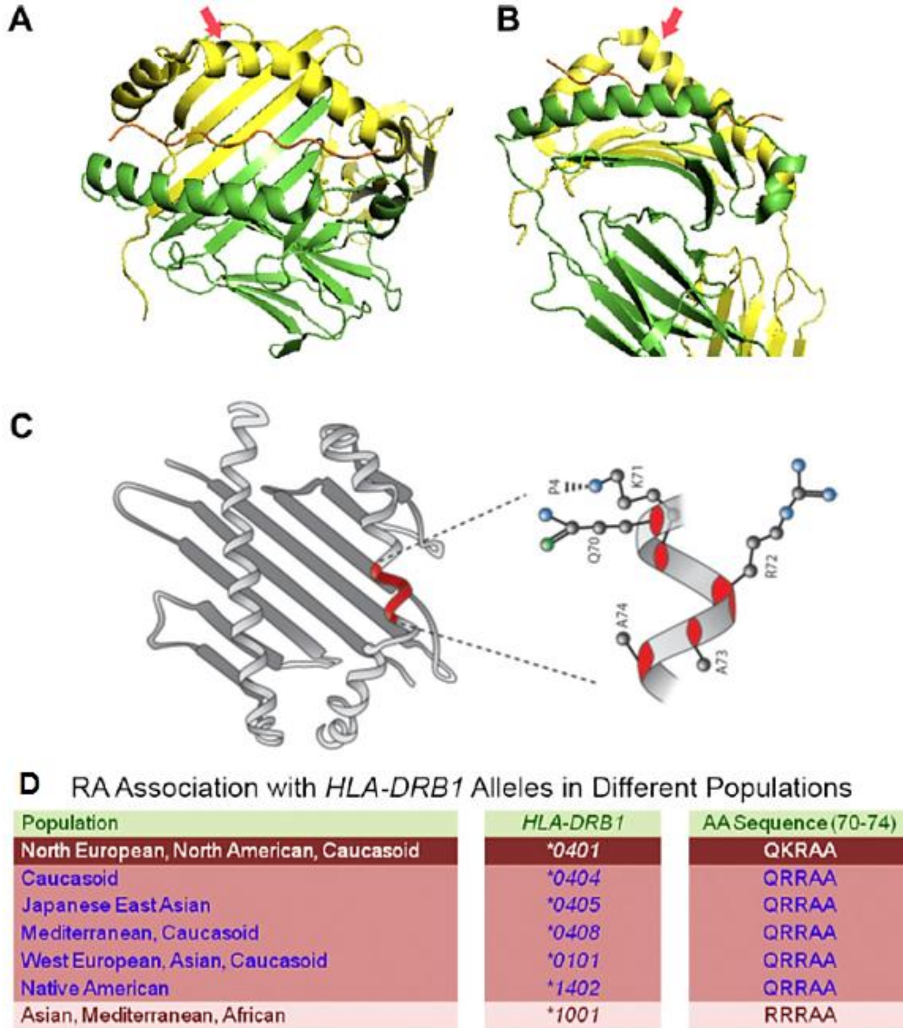
HLA= human leukocyte antigen; PTPN22= Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22; STAT4= signal transducer and activator of transcription 4; TRAF1/C5= tumor necrosis factor receptor-associated factor 1-complement component 5.

اقتبس من Bowes وزملاؤه 2008 [24]

1-1-4-2- الحاتمة المشتركة Shared Epitope:

وصف Gregersen وزملاؤه عام 1987، الحموض الأمينية عند التسلسل 70-74 من المنطقة الثالثة مفرطة التغير third hypervariable region في ألائل الـ HLA-DRB1 المرتبطة بالـ RA عند مختلف الإثنيات.[25] سُمِّيَ هذا التسلسل بالحاتمة المشتركة shared epitope (SE) (الشكل4). اعتمدت هذه الحاتمة منذ ذلك الوقت لتفسير المُكَوِّن الرئيسي لدور الـ HLA-DRB1 بالتأهيب للـ RA.[26] تعتبر الـ SE عامل الإختطار الجيني الأكثر دلالةً most significant في الـ

RA.[27] إضافة إلى ذلك، فإنَّ دورها لا يقتصر على زيادة خطر الإصابة بالـ RA فقط، بل يرتبط بزيادة وخامة المرض.[28] تتضمن تحت أنماط الحاتمة المشتركة SE subtypes بعض أنماط HLA-DR4 (DRB1*0401/0404/0405/0408)، HLA-DR1 (DRB1*0101/0102)، و HLA-DRB1*1001، و 1402*، و1406*. متتاليات الحموض الأمينية في الحاتمة المشتركة هي QKRAA/QRRAA/RRAAA (الجدول5).[23] بالرغم من أهمية نظرية الحاتمة المشتركة إلا أنها لا تفسر بشكل كامل علاقة الـ HLA-DRB1 بالـ RA.[29] خير مثال على ذلك هو HLA-DRB1*0901 في المجتمعات الآسيوية.[26]



Population	HLA-DRB1	AA Sequence (70-74)
North European, North American, Caucasoid	*0401	QKRAA
Caucasoid	*0404	QRRAA
Japanese East Asian	*0405	QRRAA
Mediterranean, Caucasoid	*0408	QRRAA
West European, Asian, Caucasoid	*0101	QRRAA
Native American	*1402	QRRAA
Asian, Mediterranean, African	*1001	RRRAA

الشكل 4: البنية الجزيئية والدراسة الوبائية للحاتمة المشتركة shared epitope (SE) في التهاب المفاصل الروماتويدي RA.

(A) منظر من الأعلى للجزيء المعبر عن الـ SE في HLA-DR1. تظهر السلسلة α باللون الأخضر، والسلسلة β بالأصفر، والثلم الببتيدي groove peptide بالبني. يشير السهم الاحمر إلى العروة الحلزونية α التي تضم الحاتمة المشتركة. (B) مقطع جانبي للجزيء نفسه. يلاحظ وجود الحاتمة المشتركة قرب لَوْيَة السلسلة β. (C) مقطع من الأعلى يُظهر موقع الـ SE في السلسلة β بالأحمر. (D) التوزع الإثني والجغرافي لألائل الـ HLA-DRB1 المرتبطة بالـ RA ونتائج الـ SE.

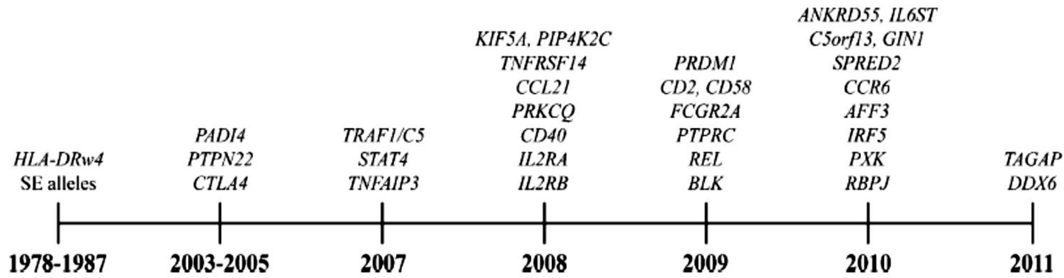
اقتبس من de Almeida وزملاؤه 2011[30] و Imboden 2009[10]

أشارت عدة دراسات إلى ترابط وجود أضداد الببتيد الحلقي المُسَترل anti-cyclic citrullinated pepyide (Anti-CCP) مع وجود ألائل HLA-DRB1 الحاوية على الـ SE عند الأوروبيين والآسيويين.[26, 31] كما وضَّحت الفرضيات في دراسات متعددة الدور المباشر للـ SE في زيادة ألفة وتقديم المستضدات الذاتية، والتفعيل اللاحق للخلايا التائية المتفاعلة ضد الذات self-reactive T cells، وخفض تفعيل الخلايا التائية المُنَظِّمة regulatory T cells، والتعديل الانتقائي للخلايا التائية في الغدة التوتية، ودور الـ SE في تفعيل جهاز المناعة السليقي/الفطري innate immune system.[32]

هذا وقد دُرست جينات أخرى مؤهبة للـ RA مثل:

- جينة التيروزين فوسفتاز PTPN22
- تعدد أشكال cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 (CTLA-4)
- signal transducer and activator of transcription 4 (STAT4)
- tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3 (TNFAIP3)
- tumor necrosis factor receptor-associated factor 1-complement component 5 (TRAF1-C5).[16]

وفي دراسة نشرة في اوائل عام 2011، حُدِّد أيضاً أكثر من 30 موقع اختطار جيني للـ RA (الشكل5).[33]



الشكل 5: الجينات المؤهبة للالتهاب المفاصل الروماتويدي.

HLA= human leukocyte antigen; PTPN22= Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22; STAT4= signal transducer and activator of transcription 4; TRAF1/C5= tumor necrosis factor receptor-associated factor 1-complement component 5; PADI4= Peptidyl arginine deiminase type IV; CTLA4= Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4; TNFAIP3= tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3; KIF5A= Kinesin heavy chain isoform 5A; PIP4k2c= phosphatidylinositol-5-phosphate 4-kinase type II; TNFRSF14: Tumor necrosis factor receptor superfamily member 14; CCL21= Chemokine (C-C motif) ligand 21; PRKCQ= Protein kinase C theta Type gene; IL2RA= Interleukin-2 receptor alpha chain; IL2R= Interleukin-2 receptor beta chain; PRDM1= PR domain containing 1; FCGR2A= Fc region receptor II-a; PTPRC= Protein tyrosine phosphatase receptor type C; REL= Reticuloendotheliosis gene; BLK= B lymphoid tyrosine kinase

اقتبس من Bax وزملاؤه 2011[33]

2-4-1-2- ألائل الـ HLA المحصنة من الإصابة بالـ RA:

إضافةً إلى ألائل الـ HLA-DRB1 المؤهبة للـ RA، توجد ألائل أخرى تمنح الحماية من الـ RA. تتواجد ألائل الـ HLA-DRB1 المحصنة protective غالباً عند الأشخاص الأصحاء وتغيب لدى

المصابين بالـ RA. صنفت هذه الألائل المحصنة بالاعتماد على نماذج مختلفة. اقتُرِحَ في أحد التصنيفات، التي اعتمدت كثيراً في الدراسات، أن التتالي DERAA في الموقع 70-74 لألّيل HLA-DRB1، وهو نفس الموقع الذي تحتله الـ SE، تضفي وقاية من الـ RA.[33] يوجد التسلسل DERAA في HLA-DRB1*0103، و0402*، و1102*، و1103*، و1301*، و1302*، و1303* (الجدول5).[34] ترتبـــــط الـ HLA-DRB1*1301 ارتباطاً وثيقاً بالوقاية من الـ RA.[33, 35]

جدول 5: تتاليات الحموض الأمينية من الحمض ذي الرقم 70 إلى الرقم 74 الموجودة في ألائل الـ HLA-DRB1 المؤهبة للإصابة بالتهب المفاصل الروماتويدي والمحصنة منه:

DRB1 alllele	Low Resolution	a.a. (location)				
		70	71	72	73	74
		Q	R	R	A	A
DRB1*0101†	DR1	Q	R	R	A	A
DRB1*0102†	DR1	–	–	–	–	–
*DRB1*0103*	DR1	D	E	–	–	–
DRB1*03	DR3	–	K	–	G	R
DRB1*0401†	DR4	–	K	–	–	–
*DRB1*0402*	DR4	D	E	–	–	–
DRB1*0403	DR4	–	–	–	–	E
DRB1*0404†	DR4	–	–	–	–	–
DRB1*0405†	DR4	–	–	–	–	–
DRB1*0407	DR4	–	–	–	–	E
DRB1*0408†	DR4	–	–	–	–	–
DRB1*0411	DR4	–	–	–	–	E
DRB1*07	DR7	D	–	–	G	Q
DRB1*08	DR8	D	–	–	–	L
DRB1*0901	DR9	R	–	–	–	E
DRB1*1001†	DR10	R	–	–	–	–
DRB1*1101	DR11	D	–	–	–	–
*DRB1*1102*	DR11	D	E	–	–	–
*DRB1*1103*	DR11	D	E	–	–	–
DRB1*1104	DR11	D	–	–	–	–
DRB1*12	DR12	D	–	–	–	–
*DRB1*1301*	DR13	D	E	–	–	–
*DRB1*1302*	DR13	D	E	–	–	–
DRB1*1303	DR13	D	K	–	–	–
*DRB1*1323*	DR13	D	E	–	–	–
DRB1*1401	DR14	R	–	–	–	–
DRB1*1402†	DR14	–	–	–	–	–
DRB1*1404	DR14	R	–	–	–	E
DRB1*1406†	DR14	–	–	–	–	–
DRB1*15	DR2	–	A	–	–	–
DRB1*16	DR16	D	–	–	–	–

صنفت الجينات المرتبطة بألائل الـ HLA-DRB1 المتعلقة بالـ RA (Shared Epitope) حسب تسلسل الحموض الأمينية a.a. في الموقع 70-74.
أُشيرَ إلى التتالي QRRAA الأكثر تُأهيباً للـ RA في الأعلى، وتمَّت الدلالة على الحموض الأمينية المشابهة بـ (-).
ترتبط الألائل المكتوبة الخط العريض بدور مؤهب للإصابة بالـ RA، بينما ترتبط الألائل المكتوبة بالخط المائل بالتحصين ضد الـ RA.
glutamine =Q؛ arginine =R؛ alanine =A؛ aspartic acid =D؛ glutamic acid =E؛ Lysine =K؛ glucine =G
† الألائل التي تحوي الحاتمة المشتركة. (اقتبس من Plenge وWeinblatt 2009،[36] وFeitsma وزملاؤه 2008،[34] وZanelli وزملاؤه 2000.[37])

2 -4-2- العمر والجنس Age and Gender:

يصيب التهاب المفاصل الروماتويدي النساء بنسبة أكبر من الرجال (1:3). بالرغم من ذلك، لا تزال آلية تأثير الجنس كعامل مؤهب للإصابة بالـ RA غير معلومة، حيث يمكن أن يكون للاختلافات الهرمونية دوراً في ذلك. الذروة العمرية للإصابة بالـ RA هي في العقد الخامس، وفي هذه المرحلة العمرية تحدث التغيرات الهرمونية عند النساء.[16, 19]

2-4-3- العوامل الهرمونية Hormonal Factors:

اقترح دور الهرمونات كعامل اختطار يؤدي إلى حدوث الـ RA بشكل سائد عند النساء. كذلك أشارت بعض الدراسات أن للإستروجين لدى النساء دورٌ منبهٌ للجهاز المناعي، بينما أشارت دراسات أخرى إلى انخفاض مستوى التيستوستيرون عند الرجال المصابين بالـ RA، مما يوحي بدورٍ مثبطٍ لديهم.[16, 38, 39]

2-4-4- العوامل البيئية Environmental Factors:

دُرِسَت خطورة عدة عوامل لتَسَبُّبِها الإصابة بالـ RA. تعمل عوامل الاختطار البيئية التي تؤثر بالـ RA لعدة سنوات قبل أن يظهر الأعراض السريرية للمرض. ومن أبرزها العوامل المعدية infectious agents والتدخين. إضافةً إلى العاملين السابقين، درست عوامل بيئية أخرى كالعوامل الغذائية (وجد نقص في المعدلات المصلية لمضادات الأكسدة لدى مرضى اللـ RA)، و الملوثات (لوحظ زيادة في معدلات الإصابة بالـ RA في المناطق الملوثة بدخان السيارات)، والحالة الاجتماعية (إصابة مرتفعة بالـ RA في المناطق المتحضرة مقارنةً مع المناطق النائية).[16, 40, 41]

2-4-4-1- العوامل المعدية Infectious Agents:

تذكر الأدبيات الطبية تورط العديد من الأحياء الدقيقة بحدوث الـ RA (الجدول 6) وذلك بناءً على وجود تراكيز مرتفعة لمستضداتها أو لأضدادها في أمصال المرضى، أو كشف مادتها الوراثية (DNA أو RNA) في السائل الزليلي أو داخل خلايا النسيج الزليلي.[16]

يعد التمويه الجزيئي molecular mimicry وانتشار الحاتمات epitope spreading أهم الآليات التي تتبعها العوامل المعدية لتحريض الـ RA. يمكن ابتداء التمويه الجزيئي بتفعيل الخلايا التائية الكامنة والمتفاعلة ضد الذات lingering auto-reactive T cells من قبل ببتيدات تنتمي للعوامل الممرضة مشابهة في البُنْيَة وتسلسل الحموض الأمينية لبعض الببتيدات الذاتية.[42]

تفترض هذه النظرية أن الأشخاص المؤهبين يكتسبون عدوى بعوامل جرثومية أو فيريسية تمتلك مستضدات مشابهة للمستضدات الذاتية. نتيجةً لذلك، ترتبط الأضداد النوعية للعامل الممرض pathogen-specific antibodies مع المستضدات الذاتية المشابهة في البُنية وتسبب ضرراً في

النسيج وتُطَوِّر المرض.[43] تتميز ظاهرة انتشار الحاتمات epitope spreading باتساع رد الفعل المناعي الأولي initial immune response المُحرَّض من التمنيع بمستضد مؤلف من ببتيد واحد أو أكثر.[44] تقترح النظريات الحديثة أن التمويه الجزيئي يبدأ حالة المناعة الذاتية، بينما يضخِّم الانتشار المناعي العملية الإمراضية pathogenic process ويبقي عليها.[42] دُرست عدة أحياء دقيقة كعوامل مؤهبة للإصابة بالـ RA، من ضمنها عدة أجناس من alphaviruses، و Herpes Viruses، وMycoplasma، وProteus mirabilis، وHuman parvovirus B1 ، وPorphyromonas gingivalis، وأحياء دقيقة أخرى (الجدول 6).

جدول 6: العوامل المعدية المذكورة في الأدبيات الطبية على أنها تقدح زناد الإصابة بالتهاب المفاصل الروماتويدي (مرتبة حسب التسلسل الأبجدي):

Infectious agent	Reference
Alphaviruses	(45)
Cytomegalovirus	(46, 47)
EpsteineBarr Virus	(46-48)
Escherichia coli	(49)
Hepatitis B virus	(50)
Human herpesvirus 6	(46)
Human Papilloma virus 47	(51)
Human parvovirus B19	(52)
Human Retrovirus 5	(53)
Klebsiella pneumoniae	(54)
Measles	(55)
Mycobacterium tuberculosis	(56)
Mycoplasma fermentans	(57-59)
Porphyromonas gingivalis	(60-62)
Proteus mirabilis	(63)
Rubella virus	(64)

2-4-4-2- التدخين Smoking:

من بين جميع العوامل البيئية، يعتبر التدخين الأقوى ارتباطاً بالـ RA حيث يرفع من حالة التأهيب للإصابة بالـ RA ويُؤثِّر عكسيّاً على الحالة السريريَّة. كذلك أشارت عدة دراسات إلى ارتباط التدخين بإنتاج أضداد الببتيد الحلقي المسترل anti-citrullinated peptide antibodies (ACPAs) والعامل الروماتويدي rheumatoid factor (RF).[16]

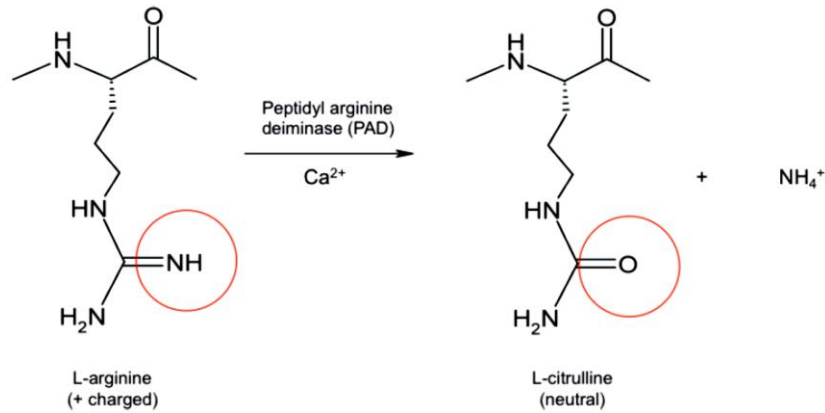
2-4-4-3- العوامل الغذائية Dietary Factors:

برهنت الدراسات أن الغذاء الغني بالسمك، وزيت الزيتون، والخضار المطبوخة يحمي من الإصابة بالـ RA بسبب احتوائها على نسب مرتفعة من الـ omega 3. وجدت عدة دراسات أن شعوب أوروبا الجنوبية تعاني من أشكال طفيفة من الـ RA مقارنةً مع الشعوب الأوروبية

الأخرى. يمكن أن يعزى هذا الاختلاف إلى النظام الغذائي لحوض البحر المتوسط Mediterranean diet.[16]

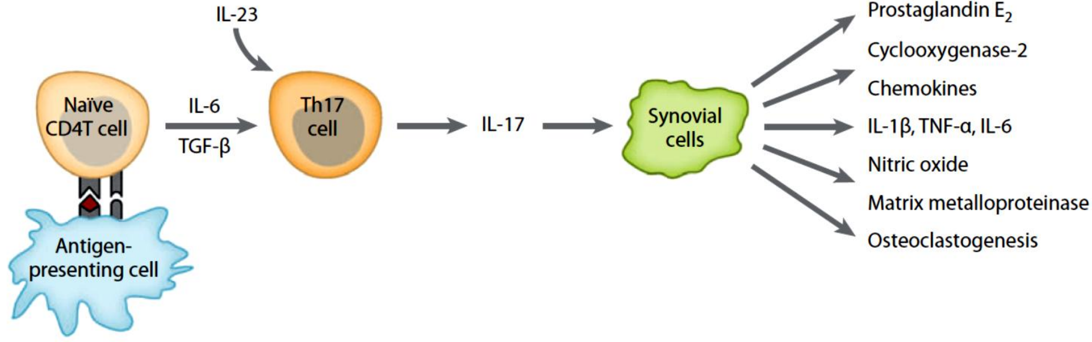
2-5- الآلية الإمراضية المناعية Immunopathogenisis:

ما يميز الـ RA عن الالتهابات المفصلية الأخرى ليس عملية السترلة (نزع الإمين من الأرجنين الببتيدي وتحويله إلى السيترولين بواسطة أنزيم نازع إمين الأرجنين الببتيدي peptidyl argenine deiminase (PAD) وبوجود Ca^{2+} في الغشاء الزليل)، بل وجود رد فعل مناعي ضد البروتينات المسترلة (الشكل6).



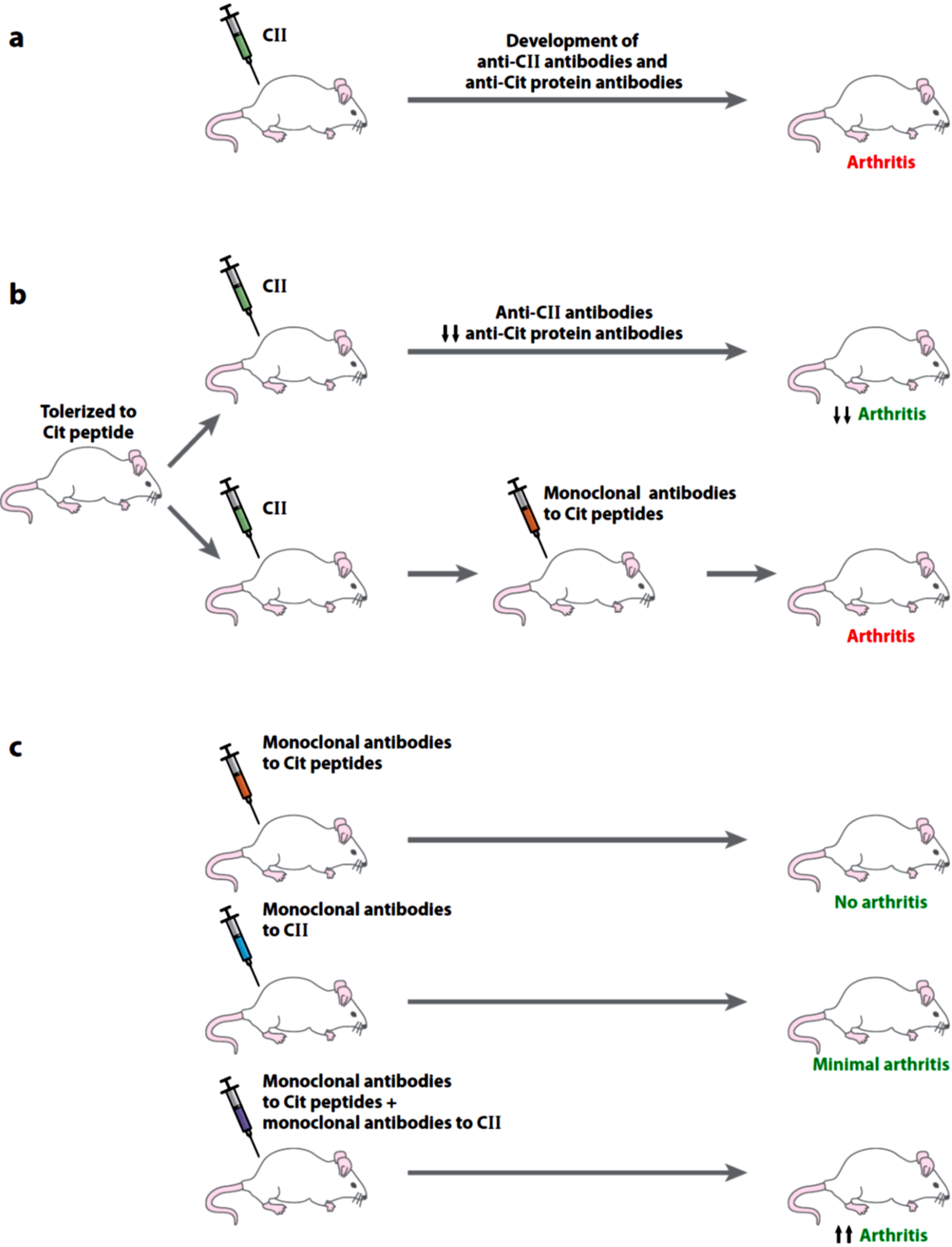
الشكل 6: تفاعل السترلة citrullination rection
اقتبس من Uysal وزملاؤه 2010[65]

لا زالت الشروط اللازمة لقدح رد الفعل المناعي غير معلومة فيزيولوجياً. لا بد من استجابة الخلايا التائية للببتيدات المسترلة حتى تبدأ عملية مهاجمة الذات. يتطلب ذلك قبط الببتيدات المسترلة ومعالجتها من قبل الخلايا المقدمة للمستضد antigen presenting cells (APCs)، ثم عرضها بواسطة جزيئات الـ HLA-DR الحاوية على الحاتمة المشتركة SE كعنصر ارتباط binding motif. يُؤدي تفاعل المعقد المشكل من الببتيد المسترل و الحاتمة المشتركة مع الخلايا التائية +CD4 النوعية إلى تطور الحالة الاتهابية (الشكل 7).[32]



الشكل 7: تمايز الخلايا التائية CD4 وتطور الحالة الالتهابية في النسيج الزليلي.
اقتبس من Imboden 2009[10]

أشار Vossenaar وVenrooij أن وجود الببتيدات المسترلة ليس نوعياً للـ RA بل أضدادها، التي تتشكل كنتيجة لرد فعل مناعي شاذ.[66] اختبر Hill وزملاؤه نظرية التحريض المناعي بواسطة الببتيدات المسترلة على فئران معدلة جينياً (DR4-IE tg). تمتلك هذه الفئران نمط الـ HLA DRB1*0401. حيث لاحظوا ظهور رد المناعة الذاتية والالتهاب المفصلي بعد حقن الفئران بالفيمتين المسترل vimentin citrullinated[67] والفيبرينوجين المسترل citrullinated fibrinogen [68] مقارنة مع حقنها بالببتيدات الأصلية. كذلك استطاع Feitsma وزملاؤه تحديد نوعين من ببتيدات الفيمنتين المسترلة التي تحرض استجابة الخلايا التائية لدى الفئران والبشر الحاملين للنمط HLA DR4.[69] كما أثبت Kuhn وزملاؤه أنَّ أضداد البروتينات المسترلة لها دور محوري في تطوُّر التهاب المفاصل المناعي، من خلال توليد التهاب مفصلي عند الفئران بحقنها بالنمط الثاني من الكولاجين CII وحيداً، أو بالمشاركة مع أضداد الببتيدات المسترلة وحيدة النسيلة (الشكل 8).[70]



الشكل 8: أضداد حاتمات البروتينات المسترلة تسبب التهاب المفاصل عند الفئران.

a- يؤدي حقن النمط الثاني من الكولاجين CII إلى إنتاج أضداد CII، وإنتاج أضداد البروتين المسترل، واتهاب المفاصل عند الفئران. **b-** لوحظ انخفاض في مستوى أضداد الببتيد المسترل وفي شدَّة الاتهاب المصلي عند حقن الفئران التي تتحمل الببتيد المسترل mice tolerized to citrullinated peptide بالـ CII؛ لكن عند الحقن المنفعل passive administration بأضداد الببتيدات المسترلة وحيدة النسيلة monoclonal antibodies to citrullinated pepides لهذه الفئران، يتم كبح التحمُّل ويتطور الاتهاب المفصلي. **c-** لا يسبب حقن أضداد الببتيدات المسترلة وحيدة النسيلة التهاباً مفصلياً عند الفئران، لكن عند مشاركتها مع أضداد CII وحيدة النسيلة يتعزز الاتهاب المفصلي.

اقتبس من Imboden 2009[10]

يعتقد أن عملية السترلة تزيد القدرة المستضدية للحاتمات، وتتجنب التحمل المركزي للخلايا التائية، وتبدأ سير عملية المناعة الذاتية.[71] وصفت أضداد العامل المحيط بالنواة anti prenuclear factor (APF) عام 1964 كأوَّل أضداد الببتيد الحلقي المسترل ACPAs. ثم اكتشفت أضداد الكيراتين anti-keratin antibodies (AKA) في عام 1979. اكتسبت أضداد الكيراتين أهمية بسبب إيجابيتها عند مرضى الـ RA سلبيّي المصل seronegative (سلبيي العامل الروماتويدي RF) وفي الطَّور المبكر للمرض. تتعرَّف الـ APF وAKA على نفس المستضد، وهو الفلاغرين filaggrin (البروتين الذي يجمع خيوط الكيراتين الخلوي cytokeratin filament-aggregating protein). عُزِل الفلاغرين من البشرة عند الإنسان human epidermis، واستخدم في تشخيص الـ RA مما أدى إلى اكتشاف أضداد الفلاغرين الذاتية anti-filaggrin autoantibodies (AFAs). لا يمكن اعتبار الفلاغرين أو طليعته profilaggrin من المستضدات الذاتية المفصلية التي تولد المناعة الذاتية، رغم نوعية الـ AFAs العالية للـ RA. لا بُدَ أن تكون الاستجابة للـ AFAs كنتيجة لتفاعل متصالب مع مستضدات مفصلية مجهولة، حيث أنَّ معدَّل الـ AFAs إلى الـ IgG الكلي في النسيج الزليلي أعلى منه في المصل، كذلك تتواجد الخلايا البلازمية plasmocytes المنتجة للـ AFAs في المنطقة الالتهابية المفصلية.[65]

تعتبر المستضدات خارج الخلوية extracellular antigens في المفصل مثل الفيبرينوجين، والسلاسل α وβ من الفيبرين، و فيمينتين، والنمط الثاني من الكولاجين collagen type II، وα إينولاز enolase، الأهداف الرئيسية للـ ACPAs؛[13, 71-73] مما يؤدي إلى بدء العملية الالتهابية بعدة آليات (مثل تشكل المعقدات المناعية).[71] ظهرت علاقة هذه الأضداد بابتداء وتطور المرض من خلال دراسات شملت مجموعات كبيرة من المرضى، حيث يستبق ظهور الأنماط السوية isotypes للـ ACPAs والـ RF بداية الـ RA بعدة سنوات.[71, 74]

1-5-2- مراحل تطور الـ RA:

المرحلة الأولى:

يحدث تَمَوُّت خلوي جسيم داخل أو خارج المفصل نتيجةً لحالة التهابية بسبب عامل سام Toxic agent (التدخين)، أو عدوى infection (P. gingivalis)، أو خلل في جهاز التصفية المناعي immune clearance system. يؤدي الخلل في إزالة الخلايا المُتَمَوِّتَة من المنطقة الإتهابية إلى بُؤْرَة نخرية necrotic area. تحتوي الخلايا المناعية المرتشحة إلى المنطقة الإلتهابية (الوحيدات monocytes والمحببات granulocytes) على الـ PAD الذي يتفعل بوجود تراكيز عالية من Ca^{2+} الناتج عن التَّمَوُّت الخلوي.[75]

المرحلة الثانية:

يسبب عدم إزالة الخلايا الإلتهابية المُتَمَوِّتَة في البُؤْرَة النَّخرية، تتراكم البروتينات داخل الخلوية intracellular المسترلة (الهستونات و الفيمنتين) وأنزيمات الـ PAD المُفَعَّلَة (PAD2 وPAD4). تعمل هذه الأنزيمات على سترلة البروتينات الزليلة خارج الخلوية extracellular مثل الفيبرين. يتدرك حوالي 99% من هذه البروتينات المسترلة في المنطقة، لذلك فإن وجود هذه البروتينات لا يؤدي إلى التهاب مفصلي مزمن.[75]

المرحلة الثالثة:

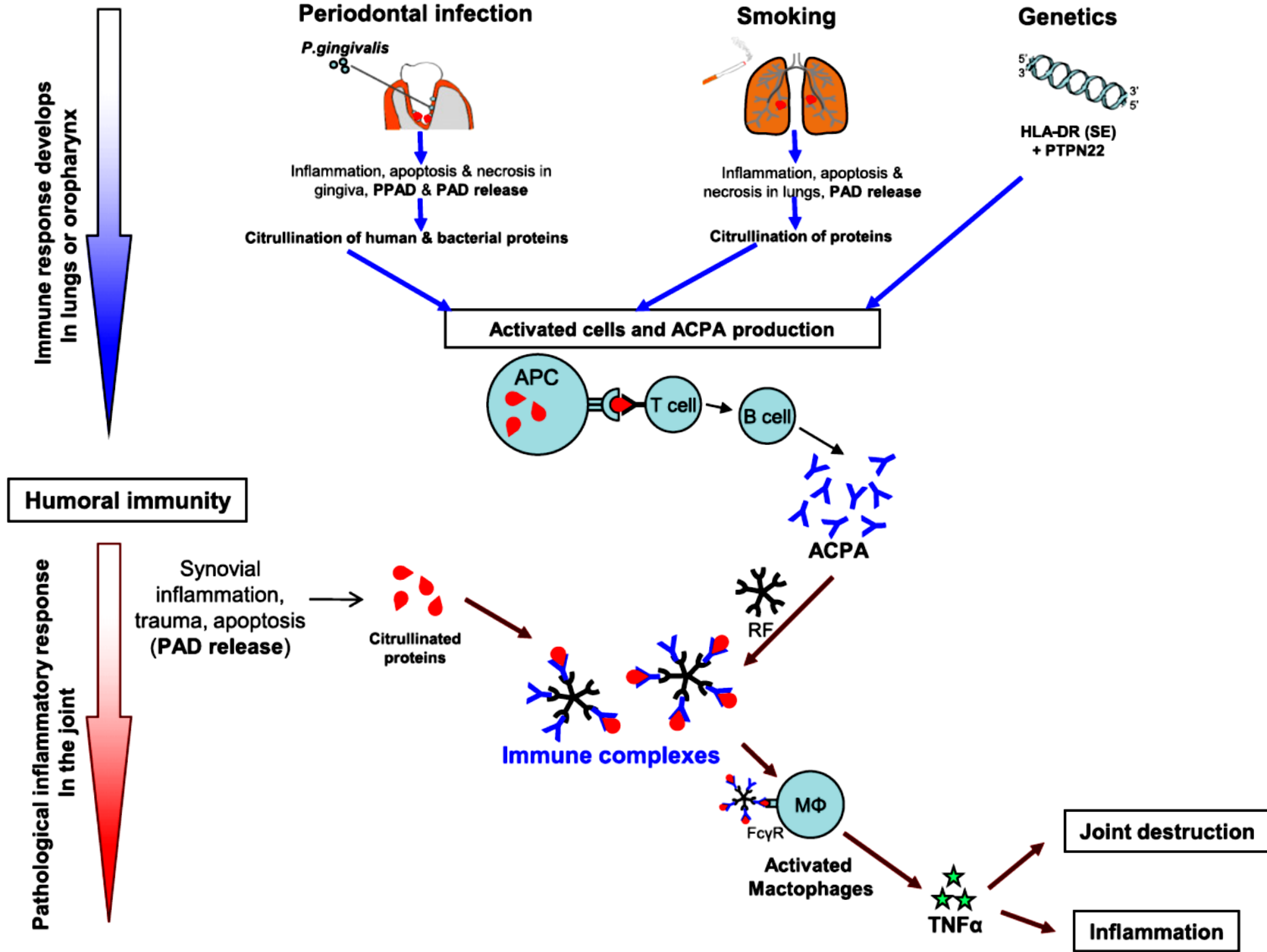
يَتَوَلَّد رد فعل مناعي ضد المستضدات المسترلة فقط عند الأشخاص القادرين على تقديم هذه المستضدات إلى الخلايا التائية من خلال الـ HLA، يتجلّى ذلك بإنتاج أضداد عالية الإلفة للببتيدات المسترلة high affinity ACPAs. يمكن أن تَتَفَعَّل الخلايا البائية ضد الذات في المفصل الملتهب أو في أنسجة ملتهبة أخرى. تدخل الـ ACPAs أو الخلايا البلازمية المنتجة لها إلى المفاصل عبر الدوران. تهاجم هذه الأضداد البروتينات المسترلة في المفاصل (الفيمنتين والفيبرين والـα إينولاز والكولاجين).[75]

المرحلة الرابعة:

بعد دخول الـ ACPAs إلى المنطقة المفصلية ومهاجمتها للمستضدات المسترلة، تتولد المعقدات المناعية immune complexes. تؤدي هذه المعقدات إلى تفعيل جهاز المتممة compliment system، ثم يتم تفعيل وجذب المحببات والوحيدات والبلاعم macrophages من خلال سبيلي مستقبلات المتممة والمستقبلات المعتمدة على Fcγ.[75]

المرحلة الخامسة:

يزداد جذب المحببات والوحيدات والبلاعم إلى المنطقة الإلتهابية المفصلية، حيث تتفعَّل ثم يحدث استمواتها مؤديةً لزيادة نسبة أنزيمات الـ PAD المُفَعَّلة. على إثر ذلك يتم سترلت البروتينات وإنتاج ACPAs جديدة تؤدي إلى تفاقم الحالة الالتهابية.[75]



الشكل 9: نموذج افتراضي عن الآلية الإمراضية المناعية للالتهاب المفصل الروماتويدي RA.

اقتبس من Quirke وزملاؤها 2011[32]

2-6- التشخيص Diagnosis:

اعتمدت الطرق التشخيصية القديمة على المعايير التفريقية بين الـ RA و الأمراض المصلية الأخرى. وضعت الكُلية الأمريكية لطب الروماتيزم American College of Rheumatology (ACR) عام 1987 معايير تشخيصية للـ RA (الجدول 7).[76]

جدول 7: معايير الكلية الأمريكية لتشخيص التهاب المفاصل الروماتويدي RA عام 1987

1. Morning stiffness (at least 1h)	1. يبوسة صباحية (ساعة واحدة على الأقل)
2. Arthritis of three or more joint areas	2. التهابات مفصلية في ثلاث مناطق أو اكثر
3. Arthritis of hand joints (≥1 swollen joints)	3. التهاب مفاصل اليد (مفصل واحد متورم على الأقل)
4. Symmetrical arthritis	4. التهاب مفاصل متناظر
5. Rheumatoid nodules	5. عقيدات روماتويدية
6. Serum rheumatoid factor	6. العامل الروماتويدي المصلي
7. Radiographic changes (erosions)	7. تغيرات في التصوير الشعاعي (نقس تكلس)
يجب وجود 4 من المعايير السبعة، ويجب أن تتواجد المعايير من 1-4 مدة 6 أسابيع.	

اقتبس من Arnett وزملاؤه 1988[76]

فشلت هذه المعايير في تشخيص الطور المبكر من الـ RA، خاصةّ أن اثنين من معاييرها (ظهور تشوهات مفصلية واختلاطات خارج مفصلية) تعد من المظاهر المتقدمة للمرض حيث يصعب العلاج. استطاع van der Helm وزملاؤه في العام 2007 من وضع معايير تساعد على التنبؤ بالتشخيص المبكر للـ RA (الجدول 8).[77]

جدول 8: معايير التنبؤ المبكر بالتهاب المفاصل الروماتويدي 2007:

1. Age (multiply by)	(0.02)	1. العمر (مضروب بـ)
2. Sex (female)	(1)	2. الجنس (أنثى)
3. Distribution of involved joints		3. توزع المفاصل المكتنفة
• Small joints hands and feet	(0.5)	• المفاصل الصغيرة في اليدين و القدمين
• Symmetrical	(0.5)	• متناظر
• Upper limbs	(1)	• الأطراف العلوية
• Upper and lower limbs	(1.5)	• الأطراف العلوية والسفلية
4. Morning stiffness (visual analogue scale)		4. يبوسة صباحية (المقياس البصري المتضاهئ)
• 26–90 mm	(1)	• 26 – 90 مم
• >90 mm	(2)	• > 90 مم
5. Number of tender joints		5. عدد المفاصل المؤلمة بالجَسّ
• Four to ten	(0.5)	• أربعة إلى عشرة
• 11 or more	(1)	• أحد عشر أو أكثر
6. Number of swollen joints		6. عدد المفاصل المتورِّمة
• Four to ten	(0.5)	• أربعة إلى عشرة
• 11 or more	(1)	• أحد عشر أو أكثر
7. C–reactive protein (mg/L)		7. البروتين المتفاعل C (مغ/ليتر)
• 5 to 50	(0.5)	• 5 حتى 50
• 51 or more	(1.5)	• 51 وأكثر
8. RF positive	(1)	8. إيجابي العامل الروماتويدي
9. ACPA positive	(2)	9. إيجابي أضداد الببتيد المسترل
		الحد القاطع لتشخيص الـ RA هو 8 نقاط

اقتبس من van der Helm-van Mil وزملاؤه 2008[77]

في العام 2010 تم ابتكار معايير جديدة للتشخيص المبكر للـ RA بعد عمل مشترك بين الكُلية الأمريكية لطب الروماتيزم ACR والإتحاد الأوروبي ضد الروماتيزم European League Against Rheumatism (EULAR) (الجدول 9).[78]

جدول 9: معايير الكلية الأمريكية لطب الروماتيزم ACR والإتحاد الأوروبي ضد الروماتيزم EULAR 2010 لتشخيص التهاب المفاصل الروماتويدي RA:

1. Joint involvement	**(0–5)**	**1. المفاصل المكتنفة**
• One medium-to-large joint	(0)	• مفصل واحد متوسط إلى كبير الحجم
• Two to ten medium-to-large joints	(1)	• اثنين إلى عشرة مفاصل متوسطة إلى كبيرة الحجم
• One to three small joints (large joints not counted)	(2)	• واحد إلى ثلاث مفاصل صغيرة (لا تحتسب المفاصل الكبيرة)
• Four to ten small joints (large joints not counted)	(3)	• أربع إلى عشرة مفاصل (لا تحتسب لمفاصل الكبيرة)
• More than ten joints (at least one small joint)	(5)	• أكثر من عشرة مفاصل (لا تحتسب المفاصل الكبيرة)
2. Serology	**(0–3)**	**2. التحاليل المصلية**
• Negative RF *and* negative ACPA	(0)	• سلبي العامل الروماتويدي وأضداد الببتيد المسترل
• Low positive RF *or* low positive ACPA	(2)	• إيجابية منخفضة للعامل الروماتويدي أوأضداد الببتيد المسترل
• High positive RF *or* high positive ACPA	(3)	• إيجابية مرتفعة للعامل الروماتويدي أوأضداد الببتيد المسترل
3. Acute-phase reactants	**(0–1)**	**3. متفاعلات الطور الحاد**
• Normal CRP *and* normal ESR	(0)	• مستوى طبيعي للبروتين المتفاعل C وسرعة التثفل
• Abnormal CRP *or* abnormal ESR	(1)	• مستوى غيرطبيعي للبروتين المتفاعل C أوسرعة التثفل
4. Duration of symptoms	**(0–1)**	**4. مدة الأعراض**
• Less than 6 weeks	(0)	• أقل من ستة أسابيع
• 6 weeks or more	(1)	• ستة أسابيع أو أكثر
		الحد القاطع لتشخيص الـ RA هو 6 نقاط

اقتبس من Aletaha وزملاؤه 2010[78]

قام Salehi وزملاؤه في نهاية عام 2011 بابتكار معايير جديدة في التشخيص المبكر للـ RA، حيث تتميز بحساسية تشخيصية أعلى من معايير EULAR/ACR 2010.[74]

جدول 10: المعايير المنشورة في عام 2012 لتشخيص التهاب المفاصل الروماتويدي RA:

Articular involvement	Points النقاط	الإكتناف المفصلي
Arthritis of ≥ 2 joints	1 P	مفصلين أو أكثر
Hand arthritis (wrist, MCP, PIP)	2 P	إلتهاب مفاصل اليد (المعصم، المفاصل السُّلمية)
Symmetric involvement	1 P	متناظر
Morning stiffness ≥ 1h	1 P	يبوسة صباحية ≤ ساعة واحدة
Duration of arthritis or morning stiffness ≥6 weeks	2 P	مدة الالتهاب المفصلي أو اليبوسة الصباحية ≤ ستة أسابيع
Serology		**التحاليل المصلية**
Positive RF or ACPA	1 P	إيجابي العامل الروماتويدي أوأضداد الببتيد المسترل
Positive RF and ACPA	2 P	إيجابي العامل الروماتويدي وأضداد الببتيدالمسترل
High titer RF or ACPA	2 P	تركيز مرتفع من العامل الروماتويدي أوأضداد الببتيد المسترل
Subcutaneous nodules		**عُقيدات تحت جلدية**
Subcutaneous nodules (elbow or forearm)	1 P	عُقَيدات تحت جلدية (المرفق أو الساعد)
Involved joints imaging		**المفاصل المكتنفة بالتصوير**
Juxta-articular osteoporosis	1 P	المفاصل المجاورة لتخلخل العظام
Erosion in X-ray or MRI	2 P	تشوهات في الأشعة السينية أو الرنين المغناطيسي
		الحد القاطع لتشخيص الـ RA هو 6 نقاط

اقتبس من Salehi وزملاؤه 2012[74]

3- فيروس الورم الحليمي 47:

3-1- التصنيف:

تصنف فيروسات الورم الحليمي حالياً إلى خمس فوق مجموعات super groups:

- فوق المجموعة A: فيروسات الورم الحليمي التي تسبب أمراضاً تناسلية genital human papillomaviruses
- فوق المجموعة B: فيروسات الورم الحليمي التي تسبب خَلَل تَنَسُّجِ البَشَرَةِ الثُّؤْلُولِيّ (EV) epidermodysplasia verruciformis
- فوق المجموعة C: فيروسات الورم الحليمي الليفي التي تصيب الحيوانات ذات الحوافر ungulate fibropapillomaviruses
- فوق المجموعة D: فيروسات الورم الحليمي البقري bovine papillomaviruses (BPVs) التي تسبب الأورام الحليمية الحقيقية
- فوق المجموعة E: فيروسات الورم الحليمي التي تسبب أمراضاً جلدية عند الحيوانات والبشر animal and human cutaneous papillomaviruses

توجد 11 مجموعة من فيروسات الورم الحليمي مصنَّفةً تحت فوق المجموعة A، و مجموعتان تحت فوق المجموعة B وC، ومجموعة واحدة تحت فوق المجموعة D وE (الشكل 10).[79]

Supergroups

Group A											B		C		D	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	1	2	1	2	1	1
32	3	61	2a	26	30	18	7	16	6b	34	5	4	B1	E1	B3	1a
42	10		27	51	53	45	40	31	11		8	48	B2	D1		41
	28		57	69	56	39	43	33	13		9	50			B4	63
	29				66	59		35	44		12	60				Co
						68		52	55		14	65			B6	Ro
											d					
						70		58	P1		15					Cr
								67			17					
								R1			19					
											20					
											21					
											22					
											23					
											24					
											25					
											36					
											37					
											38					
											47					
											49					

الشكل 10: تصنيف مجموعات فيروس الورم الحليمي.

R, rhesus monkey papillomavirus; P, pygmy chimpanzee papillomavirus; B, bovine papillomavirus; Cr, cottontail rabbit papillomavirus; Co, canine oral papillomavirus; D, deer papillomavirus; E, elk papillomavirus; Ro, rabbit oral papillomavirus.

اقتبس من McCance 2009[79]

ينتمي فيروس الورم الحليمي 47 إلى المجموعة الأولى من فوق المجموعة B. تم تنظيم مجينه الفيروسي وتحديد موقعه التصنيفي من قبل Kiyono وزملاؤه عام 1990.[80]

3-2- الإمراضية:

تصيب فيروسات الورم الحليمي في فوق المجموعة B البشرة عند الإنسان بشكل تفضيلي. تبقى هذه العدوى كامنة لدى معظم الناس، لكنها تُفعَّل في حالات الكبت المناعي.[81] لم تعزل هذه الفيروسات المسببة لخَلَل تَنَسُّج البَشَرَةِ الثُّؤْلُولُيّ من الأشخاص الطبيعيين، إنما تم عزلها من مرضى زرع الأعضاء، مما يؤيد أن هذه الفيروسات تصيب العامة لكن بدون ظهور دلالات سريرية.[79] عُزِل فيروس الورم الحليمي 47 لأول مرة من آفات جلدية حميدة لمريض مصاب بخلل تنسج البشرة الثُّؤْلُولُيّ. في العام 1996، قام Adachi وزملاؤه بعزل هذا الفيروس من الآفات الجلدية الورمية لخلل تنسج البشرة الثُّؤْلُولُيّ.[82]

لتمام العدوى، لا بد لفيروسات الورم الحليمي في فوق المجموعة B أن تصل إلى طبقة الخلايا القاعدية للبشرة. لذلك يعتقد أن انتقال هذه الفيروسات يَسْهُل عبر الطبقات الجلدية المتشققة abraded أو المنَعَّمة/المقشّرة macerated. تهاجر هذه الفيروسات داخل الخلايا الجلدية عَبْرَ مختلف طبقات الخلايا الحرشفية squamous cell layers حيث تُكمل دورة حياتها، ثم تختبئ الفيروسات الناضجة على سطح الجلد. يصعب على الجهاز المناعي التعرف والإستجابة للعدوى بهذه الفيروسات بسبب تكاثرها داخل خلايا البشرة (دائمة التجدد) وكمونها فيها.[83]

3-3- البروتينات الفيروسية:

ينقسم المجين الفيروسي إلى ثلاث مناطق. يتم التعبير عنها لإنتاج البروتينات الفيروسية:

المنطقة الأولى: يتم انتساخ الجينات الفيروسية للـ البروتينين E6 وE7

المنطقة الثانية: تشفِّر للبروتينات المساهمة في التنسُّخ الفيروسي (E1، وE2، وE4، وE5، وE6، وE7). تدعى هذه المنطقة بالمنطقة المبكرة early region (E).

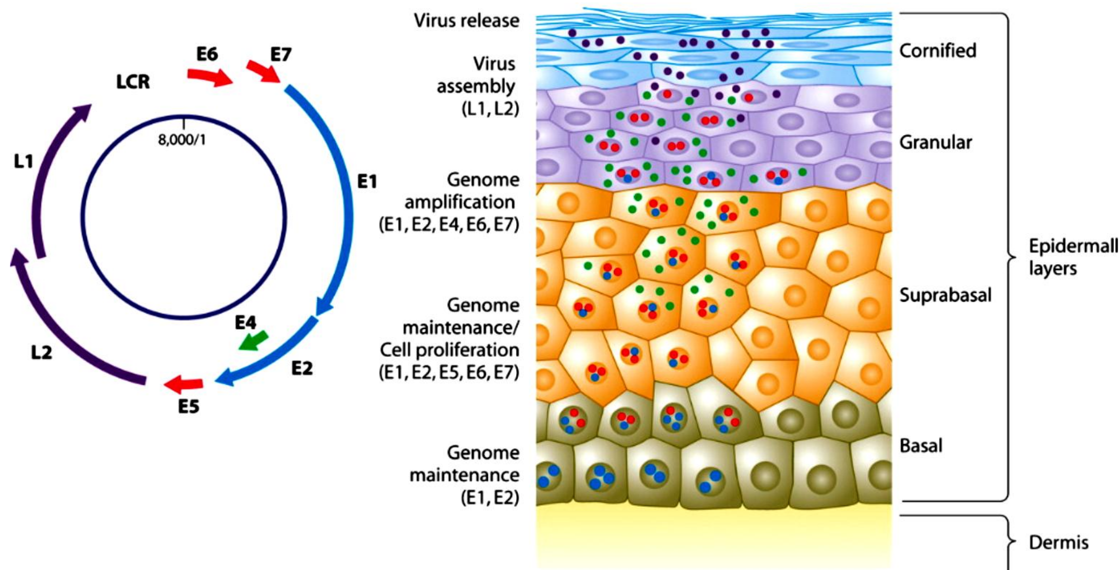
المنطقة الثالثة: تشفِّر للبروتينات البنيوية L1 وL2. تدعى هذه المنطقة بالمنطقة المتأخرة Late region (L).[84]

يلخص الجدول 11 بروتينات فيروس الورم الحليمي ووظائفها، ويظهر الشكل 11 مراحل دورة حياة الفيروس والمجين الفيروسي.

جدول 11: بروتينات فيروس الورم الحليمي ووظائفها:

Protein	Functions
E1	Viral DNA replication تنسُّخ الـ DNA الفيروسي
E2	Control of viral transcription, DNA replication, and segregation of viral genomes. يضبط الانتساخ الفيروسي، وتنسُّخ الـ DNA، وفصل المجين الفيروسي.
E4	Favor and support the HPV genome amplification, besides regulating the expression of late genes, controlling the virus maturation, and facilitating the release of virions. يشجع ويدعم تضخيم مجين فيروس الورم الحليمي، بالإضافة إلى تنظيم تعبير الجينات المتأخرة، وضبط النضج الفيروسي، وتسهيل خروج الفريونات.
E5	Enhance the transforming activity of E6 and E7; Promotes fusion between cells, generating aneuploidy and chromosomal instability; Contribute to immune response evasion. يعزز فعالية استحالة الـ E6 وE7، والاندماج بين الخلايا، و إحداث اختلال في الصيغة الصبغية وعدم استقرار الصبغيات، ويشارك في تجنُّب رد الفعل المناعي.
E6	Bind and degrade the tumor-suppressor protein p53, inhibiting apoptosis; Interact with proteins of the innate immune response, contributing to immune evasion and persistence of virus; Activate the expression of telomerase. يرتبط ويُدَرِّك البروتين الكابت للورم p53 مما يثبط الاستماتة، ويتفاعل مع البروتينات الناتجة عن رد الفعل المناعي السَلِيقِيَّ معززاً التجنب المناعي واستدامة الفيروس، ويفعل تعبير التوليميراز.
E7	Bind and degrade the tumor-suppressor protein pRB; Increase cdk activity; Affects the expression of S phase genes by directly interacting with E2F factors and with histone deacetylases; Induce a peripheral tolerance in cytotoxic T lymphocytes (CTL) and Downregulate the expression of TLR9, contributing to immune response evasion يتحد ويُدَرِّك البروتين الكابت للورم pRB، يزيد من فعالية الكيناز المعتمد على السيكلين، ويؤثر على تعبير جينات الطور S من خلال تفاعله المباشر مع العوامل E2F ونازعات أسيتيل الهستون، ويُحرض تَحَمُّلاً محيطياً في اللمفاويات التائية القاتلة للخلايا ويقلل من تعبير الـ TLR9، مساهماً في تجنُّب رد الفعل المناعي.
L1	Major capsid protein; contains the major determinant required for attachment to cell surface receptors. It is highly immunogenic and has conformational epitopes that induce the production of neutralizing type-specific antibodies against the virus. البروتين الرئيسي للقفيصة، يحتوي على المحددات المطلوبة للارتكاز على المستقبلات السطحية للخلية. يتميز أنه مستمنع قوي، يمتلك حاتمات هيئية تحرض على إنتاج أضداد نوعية ضد الفيروس.
L2	Minor capsid protein; L2 contributes to the binding of virion in the cell receptor, favoring its uptake, transport to the nucleus, and delivery of viral DNA to replication centers. Besides, L2 helps the packaging of viral DNA into capsids. البروتين الجزئي للقفيصة، يشارك في ارتباط الفريون مع مستقبل الخلية مما يسهل القبط، والنقل إلى النواة، وإيصال الـ DNA الفيروسي إلى مراكز التنسُّخ. يساعد على تجميع الـ DNA الفيروسي داخل القفيصة.

اقتبس من Fernandes J. وFernandes T. 2012[84]



الشكل 11: دورة حياة فيروس الورم الحليمي.
اقتبس من Fernandes J. وFernandes T. 2012[84]

4-3- علاقة HPV-47 بالتهاب المفاصل الروماتويدي:

وجد Shi وزملاؤه 2008[51] تماثلاً كبيراً في بنية أحد مستضدات البروتين E2 لفيروس الورم الحليمي 47 والمستضد الأبرز للبروفلاغرين البشري الذي حدده Schellekens وزملاؤه عام 1998.[85] يتميز مستضد البروفيلاغرين هذا عند سترلته بنوعية عالية لأضداد الببتديد المسترل anti-CCP تصل إلى 95% وحساسية 76%.[85]

4- مقايسة المعالم المخبرية المتعلقة بالتهاب المفاصل الروماتويدي:

4-1- مقايسة أضداد الببتيد الحلقي المسترل Anti-CCP:

تستخدم طريقة الفلورة المناعية غير المباشرة في كشف أضداد البروتينات المسترلة، لكنها لم تستخدم بشكل واسع بسبب صعوباتها التقنية. تم تطوير الببتيدات المسترلة مما مهَّد الطريق لفحوصات مخبرية جديدة لتشخيص الـ RA (الجيل الأول من أضداد الببتيد الحلقي المسترل). صنِّعت الببتيدات بشكل حلقي ثلاثي الأبعاد للحصول على الحساسية الأمثل، حيث يمكن للمجموعات المستضدية في هذه الببتيدات أن تتعرف على الأضداد الذاتية من نمط IgG عند مجموعات مختلفة من مرضى الـ RA. أُنتجت مقايسة الجيل الأول من الـ anti-CCP بنوعية ممتازة (97%) وحساسية منخفضة (68%).[86] تم تطوير أول منتج من الجيل الأول من الـ anti-CCP عام 2000، بالاعتماد على ببتيد حلقي مسترل واحد مشتق من الفيلاغرين.[87] سرعان ما تم تطويره بإضافة ببتيدات حلقية جديدة (الجيل الثاني من أضداد الببتيد الحلقي المسترل) مما أدى إلى حساسية أفضل (70-80%) من الجيل الأول. طوِّر الجيل الثالث من أضداد الببتيد الحلقي المسترل مؤخراً.[86] أظهرت عدة دراسات بأن الجيل الثالث لم يحرز أي تقدم مقارنة مع الجيل الثاني.[87-89] أجري تطوير على الجيل الثالث من أضداد الببتيد الحلقي المسترل (anti-CCP3.1) لتتمكن من كشف أضداد CCP3 من نمط IgG وIgA معاً.[87] في دراسة أجراها dos Anjos وزملاؤه 2009 تبين أن الكشف المشترك عن أضداد الـ CCP من نمط IgG وIgA يعطي حساسية ونوعية مرتفعة بالإضافة إلى ارتفاع في القيمة التنبؤية الإيجابية والقيمة التنبؤية السلبية.[90] تستطيع بعض المقايسات أن تكشف عن الببتيدات المسترلة غير الحلقية مثل الفيمتين المسترل. تمتاز مقايسة أضداد الفيمنتين المطفَّر المسترل mutated citrullinated vimentin (anti-MCV) بحساسية أعلى من مقايسة الـ anti-CCP بينما تظهر نوعية أقل.[87]

تجري مقايسة الـ anti-CCP على نحوٍ تقليدي بطريقة الـ ELISA، إذ تم تصنيعها من قبل شركات عدة، لكن أجهزة التحليل التي تتيح الإدخال العشوائي random access analyzers وفَّرت ميزات إضافية من حيث الجريان الأمثل للمعايرة وتقليل الوقت المطلوب. تستطيع أجهزة التحليل التي تتيح الإدخال العشوائي أن تعطي 170 نتيجة في الساعة بينما تحتاج الـ ELISA إلى 3 ساعات لإعطاء أول نتيجة.[91] تعتمد أجهزة التحليل التي تتيح الإدخال العشوائي على مبادئ مناعية مختلفة في المعايرة، فمنها ما يعتمد على الومضان الكيميائي المناعي chemiluminescent microparticle immunoassay، أو يعتمد على الفلورة المناعية المرتبطة بالأنزيم fluorescent microparticle enzyme immunoassay، أو يعتمد على الومضان الكيميائي الكهربائي المناعي electrochemiluminescent microparticle immunoassay.[92]
كما توجد طريقة سريعة للكشف عن الـ anti-CCP من خلال قطرة دم من الإصبع.[87] تعتمد هذه الطريقة على مبدأ الاستشراب الورقي، حيث تثبت الـ CCP2 على غشاء مسامي ويتألف كاشف التحري من جسيمات من الذهب الغرواني موسوم بأضداد الـ IgG البشري. تبيَّن لـ Snijders وزملاؤه 2008 أن الطريقة السابقة سريعة وذات مصداقية ويعوَّل عليها في التحري عن الـ anti-CCP عند استخدام الدم الشعري أو المصل.[93]

4-2- مقايسة العامل الروماتويدي:

تكشف أغلبية مقايسات العامل الروماتويدي RF عن أضداد الـ IgM الموجهة ضد القسم Fc من جزيئة الـ IgG. يعد فحص التراص agglutination test أكثر مقايسات الـ RF استخداماً. يقايس فحص التراص أضداد الـ IgM فقط على شكل تركيز أو وحدات. تتراوح حساسية مقايسة الـ RF بالتراص بين 70-85% والنوعية بين 40-90%.[87]

طوِّرت تقنيات جديدة لمقايسة الـ RF مثل مُقَايَسَة المُمْتَزِّ المَناعِيِّ المُرْتَبِطِ بالإِنْزِيْم (ELISA) enzyme linked immunoasorbant assay، والمقايسة الشعاعية المناعية (RIA) radioimmune assay، وتقنية قياس الكدر nephelometry technique. بلغت حساسية التشخيص بهذه التقنيات بين 50-90% ونوعيتها 50-95%. أجريت عدت دراسات لمقارنة طرق الكشف عن الـ RF، فلوحظ أن نتائج فحص تراص اللاتكس latex agglutination test مشابهة لنتائج قياس الكدر والمقايسة الشعاعية المناعية.[87]

4-3- مقايسة البروتين المتفاعل C:

اقتصرت مقايسة البروتين المتفاعل C حتى أواخر السبعينيات على التقنيات الكيفية والنصف كمية qualitative and semi-quantitative techniques بطريقة التراص باللاتكس. توجد حالياً طرق أكثر دقة وأسرع في المقايسة الكمية للـ CRP باستخدام طريقة الكدر الليزري

nephelometry laser، ومعدل الكدر المناعي أو مقياس العكر rate immunonephelometry or turbidometry، والـ ELISA.[94]

4-4- تنميط جينة مُسْتَضِدَّاتُ الكُرَيَّاتِ البيضِ البَشَرِيَّة HLA:

تم تنميط الـ HLA سابقاً بالطرق المصلية، لكن في السنوات الأخيرة بدأت طرائق التنميط المعتمدة على الـ DNA تأخذ مكانها. بالرغم من اعتماد طرائق التنميط المعتمدة على الـ DNA بعد المؤتمر العاشر لمجموعة العمل الدولية للتوافق النسيجي International Histocompatibility Working Group في العام 1987، إلا أن العمل بهذه الطرائق سبق هذا المؤتمر بسنوات (الجدول 12).[95]

جدول 12: الأحداث الهامة في تطور طرائق تنميط الـ HLA المعتمدة على الـ DNA:

Year	Event
1980-82	cDNA sequencing
1987	10th International Histocompatibility Workshop New York _ RFLP
1987	advent of PCR
1987-89	class II SSOP
1988	RFLP class II typing with one enzyme
1988-91	DNA techniques for HLA typing in diseases
1990	heteroduplexes
1991	optimization of graft survival using RFLP
1991	11th International Histocompatibility Workshop Yokohama - class II SSOP evaluation
1992	HLA-DNA typing in Anthropology studies
1992	class II SSP
1992-onward	exponential increase in number of new HLA alleles identified
1992-93	class I SSOP
1993	class I SSP
1993-94	Sequencing Based Typing (SBT)
1995	HLA-DNA typing in bone marrow transplantation
1996	DNA typing for non-classical HLA loci
1996	12th International Histocompatibility Workshop
1996	Paris _ class I SSP and SSOP evaluation
1997	Reference-Strand Conformational Analysis (RSCA)

اقتبس من Ferrer وزملاؤها 2005[95]

تستخدم الطرق الثلاثة الأكثر تطبيقاً في تنميط الـ HLA تفاعل البوليميراز التسلسلي polymerase chain reaction (PCR) كنقطة بداية وهي:

1- الـ PCR الذي يستخدم قَليلُ النُّوكليوتيد نوعيّ التتالي sequence-specific oligoneucleotide (PCR-SSO)

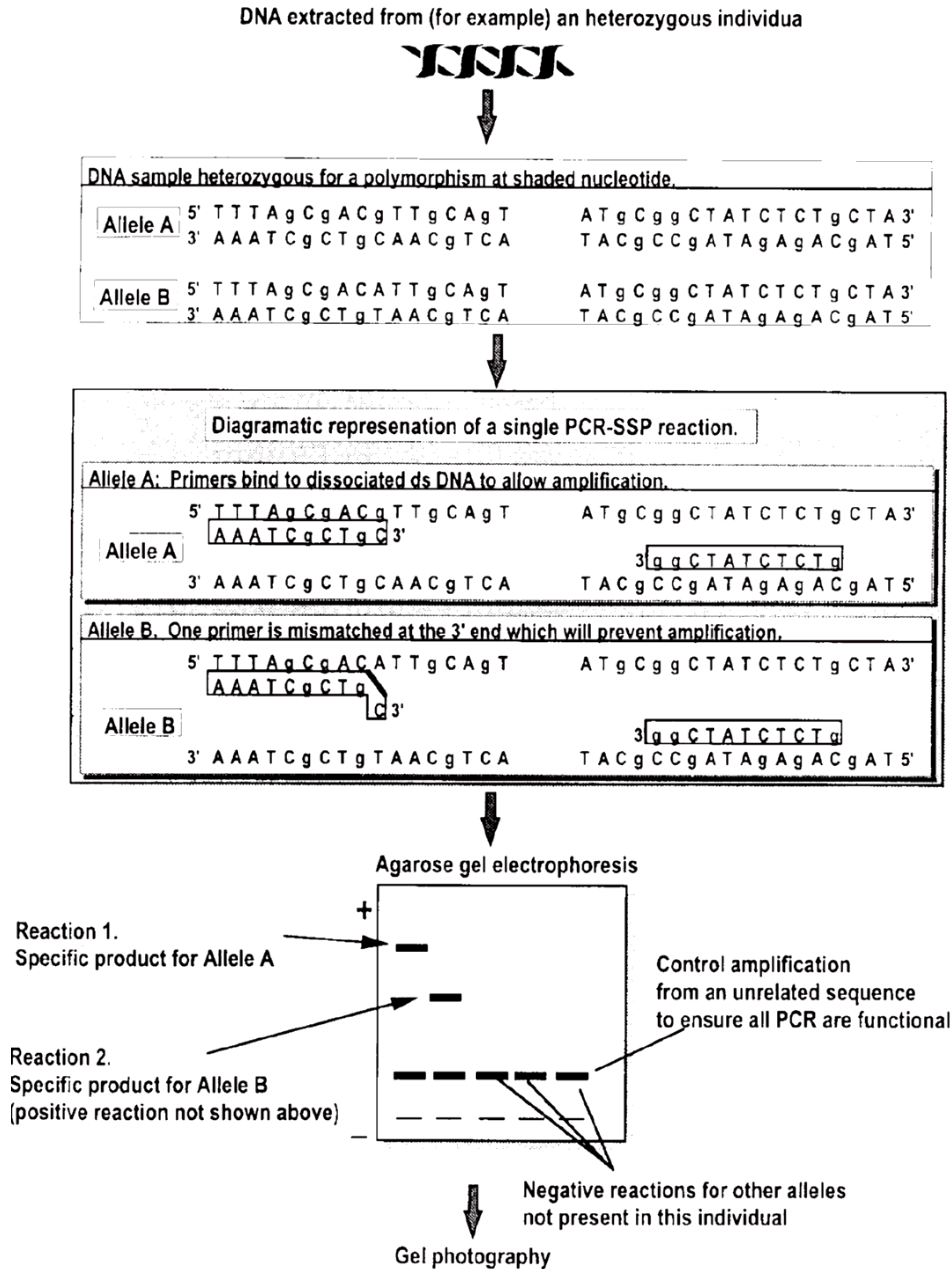
2- الـ PCR الذي يستخدم مشرع نوعيّ التتالي sequence-specific primer (PCR-SSP)

3- تحديد التسلسل بالـ PCR (PCR sequencing)[96]

يعتمد مبدأ الـ PCR-SSO على تضخيم الموضع النوعي للـ HLA بالـ PCR وتسبير لاحق للناتج.[97] طورت هذه التقنية من التسبير بالفوسفاتاز القلوي والتحري بالمقايسة اللونية إلى

استخدام خرزات ميكروويـة microbeads موسومة بمادة مفلورة والتحري بتقنية الـ Luminex. تتميز تقنية الـ Luminex بقدرتها على قياس تحاليل متعددة في نفس الوقت داخل بئر التفاعل.[98]

صمم الـ PCR-SSP اعتماداً على نظام تضخيم الطفرة الحرونة amplified refractory mutation system (ARMS).[99] تتضمن هذه الطريقة استخدام عدة تفاعلات PCR بهدف التحري عن وجود أو غياب تعدد الأشكال polymorphisms ضمن جينة الـ HLA الهدف.[96] تعتمد هذه التقنية على أن المَشْرع المتمم complementary primer لمتاز بكفاءة عالية في تفاعل الـ PCR أكثر من المَشْرع الذي يحتوي طفرة واحدة أو أكثر.[98] تنبع نوعية الـ PCR-SSP من توافق النهاية '3 لأحد أو كِلا المشارع مع تسلسل الـ DNA الهدف، و بالتالي يسمح بتحديد أي طفرة نقطية من خلال تفاعل PCR واحد أو اثنين. يتم التحري عن وجود التضخيم أو عدمه باستخدام الرحلان الكهربائي على الهلام وإظهارها بالـ ethidium bromide. للتفريق بين النتيجة السلبية أو فشل التضخيم، يتضمن الـ PCR-SSP مشارع لتضخيم جينة خاصة تلعب دور الشاهد الإيجابي (الشكل 12).[100]



الشكل 12: مبدأ الـ PCR الذي يستخدم مشرع نوعيّ التتالي sequence-specific primer (PCR-SSP)

اقتبس من Bunce 2003[100]

تمتلك تقنية تسلسل الـجينات بالـ PCR قدرة أعلى من التقنيتين السابقتين في تحديد الأنماط الجديدة من الـ HLA. تستخدم المعلومات الناتجة عن هذه التقنية في تصنيع وتطوير كواشف الـ PCR-SSO والـ PCR-SSP.[96]

يعتمد اختيار التقنية النوعية لتنميط الـ HLA متطلبات المخبر. يتأثر الاختيار بإلحاح ومتطلبات الحالة السريرية، وعدد العينات، وتوفر الأجهزة والكادر المدرب والميزانية المادية.[99]

الدراسة العملية

Practical Study

1- هدف الدراسة Objective:

بسبب انتشار الإصابة بالتهاب المفاصل الروماتويدي في جميع المحافظات السورية، ووجود عوامل اختطار ذاتية وخارجية عديدة تقدح زناد هذه الاصابة؛ هدفت دراستنا إلى تقصي مستضد فيروس الورم الحليمي $\text{HPV-47 E2}_{345-362}$ والنمط النسيجي HLA-DRB1، كعاملين مؤهبين للإصابة بالتهاب المفاصل الروماتويدي في جمهرةٍ سوريةٍ، أملاً في استخدامهما في التشخيص المبكر والوقاية من المرض.

2- تصميم البحث Study Design:

تم تصميم دراسة استباقية Cohort Study بشكل حالة-شاهد case-control، لتحديد الإختطار النسبي للعاملين المؤهبين بالمقارنة بين مجموعتين من المرضى و الأسوياء.

3- مجموعات الدراسة Patients:

شملت الدراسة 96 مريضاً يعانون من التهاب المفاصل الروماتويدي (72 نساء، 24 رجال) تبعاً لمعايير الكلية الأميريكية لطب الروماتيزم American College of Rheumatology (ACR) 1987[76] (الجدول13). استثني من الدراسة مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي الشبابي والمرضى المصابين بأمراض مناعية أخرى بالاعتماد على استجوابهم أو بالرجوع إلى سجلاتهم المرضية. تراوحت أعمار المرضى بين 19 و 59 سنة (41.41 ± 10.57).

تم الإعتيان من المرضى في الفترة ما بين 2010/01/10 و2011/08/30 وذلك من (الشكل13):

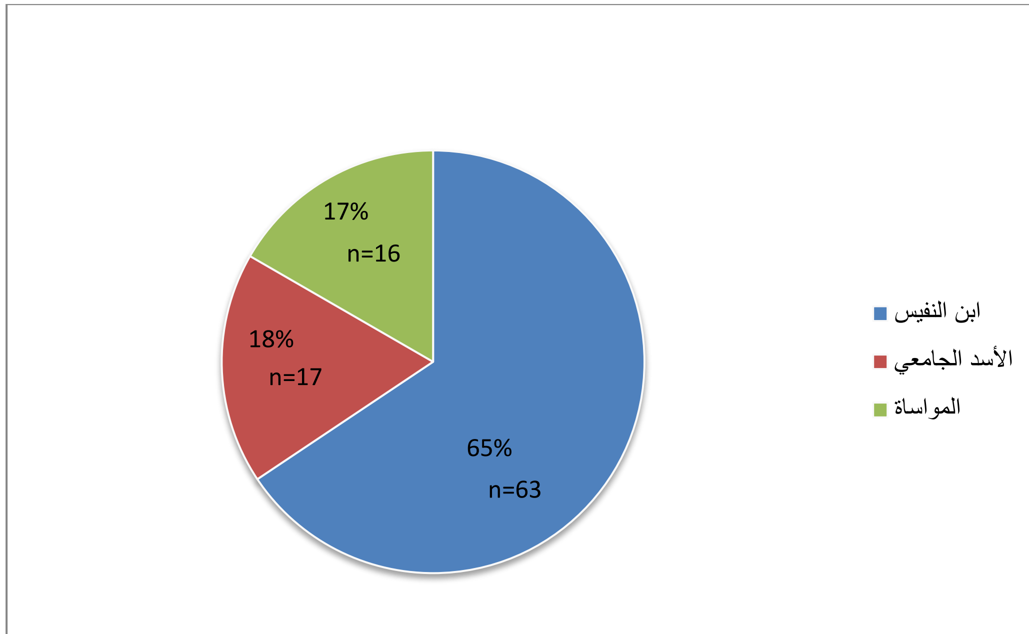
- العيادات المفصلية في مشفى إبن النفيس (63 مريضاً)
- الشعبة والعيادات المفصلية في مشفى الأسد الجامعي بدمشق (17 مريضاً)
- الشعبة والعيادات المفصلية في مشفى المواساة الجامعي (16 مريضاً)

جدول13 : الخصائص الديموغرافية لمرضى التهاب المفاصل الروماتويدي (RA) وأفراد المجموعات الشاهدة

الخصائص	*مرضى الـ RA (n= 86)	أفراد المجموعات الشاهدة (n=200)
متوسط الأعمار (± الإحراف المعياري) عام	41.41 (10.57)	40.21 (10.11)
متوسط مدة الإصابة (± الإحراف المعياري) عام	11.26 (6.25)	NA**
عدد النساء	69 (80.23 %)	160 (80%)
عدد الرجال	17 (19.77 %)	40 (20%)
نسبة النساء:الرجال	1:4	1:4

*مرضى الـ RA: شخص لهم التهاب المفاصل الروماتويدي تبعاً لمعايير الكلية الأميريكية لطب الروماتيزم ACR.[76]

**NA: لا ينطبق عليها



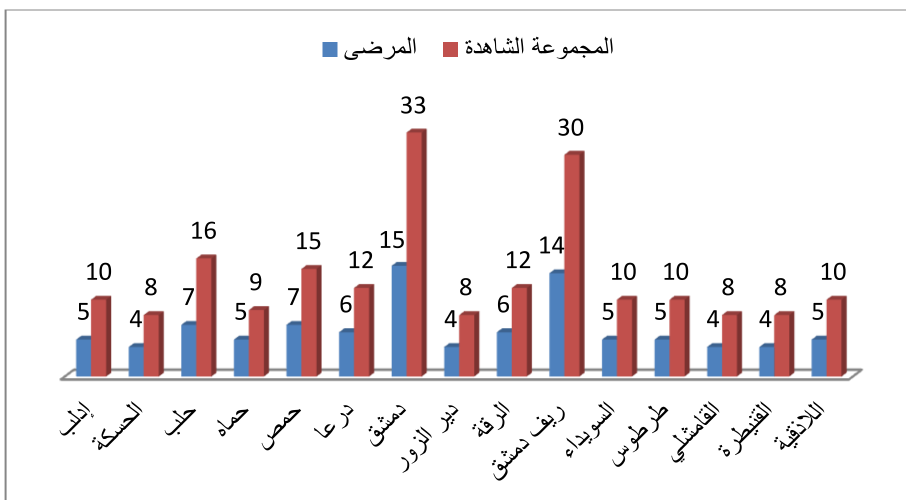
الشكل 13: توزع أعداد عينات مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي RA حسب أماكن الحصول عليها

4- المجموعة الشاهدة Control Group :

تضمنت 200 حالة سوية (161 نساء، 39 رجال) متوسط الأعمار 40.21 ± 10.11 عاماً (الجدول13)

اختيرت المجموعات الشاهدة:

- مقاربةً لمجموعات الدراسة عمرياً، جنسياً
- مقاربةً لمجموعات الدراسة من حيث التوزع الديموغرافي الجغرافي (الشكل14)
- لا يوجد أي حالات التهاب مفاصل روماتويدي لدى أقاربهم من الدرجة الأولى
- لا يعاني أياً منهم أو من أقربائهم من مرضٍ مناعيٍ ذاتي.



الشكل 14: توزع أعداد المرضى و المجموعة الشاهدة على أماكن انتمائهم وسكنهم في المحافظات السورية

5- موافقة مستنيرة Informed Consent:

تم الحصول على موافقة جميع المرضى والأسوياء بالمشاركة في الدراسة بتوقيعهم بعد اطلاعهم على استمارة الموافقة المستنيرة الخاصة بالبحث وتسليمهم نسخة عنها.

جامعة دمشق
كلية الصيدلة
قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة

موافقة مستنيرة على المشاركة في بحث علمي لِنَيْل شهادة ماجستير

عنوان الدراسة: "مسببات التهاب المفاصل الروماتويدي في جمهرةٍ سوريةٍ: HPV-47 وHLA-II"

اسم الباحث: جميل محمد مراد

إشراف: أ. د. فوزة منعم

هدف البحث: التعرف على مسببات التهاب المفاصل الروماتويدي الفيروسية والجينية.

ما هو المطلوب منك في هذا البحث: المطلوب عينة دم لإجراء البحث.

المخاطر أو الإزعاجات التي يمكن أن تتعرض لها: لا نتوقع أي مخاطر من خلال مشاركتك في هذا البحث. يمكن أن تحصل بعض الإزعاجات الثانوية عند سحب الدم، كإزرقاق بسيط في مكان السحب يزول خلال بضعة أيام.

الفائدة المرجوّة من هذا البحث: يمكن لهذا البحث أن يساعد في تحسين التشخيص والعلاج، وحماية الأجيال القادمة من الإصابة بهذا المرض. كما أنَّك سوف تحصل على جميع نتائج البحث مجاناً.

المشاركة طوعية: مشاركتك في هذا البحث طوعية بالكامل، ويمكنك الإنسحاب في أي وقت. قرارك في عدم المشاركة لن يؤثر على طبيعة العلاقة مع المشفى أو الكادر الطبي سواءً حالياً أو في المستقبل.

الإنسحاب من الدراسة: يمكنك التوقف عن المشاركة في هذه الدراسة لأي سبب وفي أي وقت.

السرية: سوف تحفظ كل المعلومات التي أدليت بها فيي ملفات، وإذا أردت عدم ظهور موافقتك أو إسمك في أي تقرير أو نشرة علمية لهذا البحث. لن يطلع على معلوماتك إلا طاقم البحث و سوف يحفظ بسريَّة.

أسئلة حول البحث: إذا كان لديك أي سؤال حول البحث أو حول مشاركتك لاتتردد بالإتصال بالدكتور جميل مراد عبر الهاتف: 0966546618 أو عبر البريد الإلكتروني jamilmourad@yahoo.com.

يُملأ من قبل المشارك في البحث:

اسم المشارك...

أقرُّ بأنني قرأت / قُرئت عليَّ هذه المعلومات الواردة أعلاه، و شرحت لي بلغة مفهومة، وفهمتها وقد أتيح لي أن أسأل جميع الأسئلة المتعلقة بموضوع الدراسة، وتلقيت إجابات شافية، وعليه أتطوع بكامل إرادتي وأهليتي للمشاركة في هذا البحث الذي يجريه الصيدلاني جميل مراد في مخابر جامعة دمشق وأوافق على أخذ عينة دم وريدية منّي لأغراض البحث.

دمشق في .... / .... / ...... **توقيع المشارك**:..

يُملأ من قبل الباحث:

أقر بأنني شرحت للمشارك / لأهله هذه المعلومات الواردة أعلاه بلغة مفهومة، وقد رحبت بتلقي أي أسئلة تتعلق بموضوع الدراسة، وقدمت إجابات شافية عن جميع الأسئلة المطروحة بهذا الخصوص.

دمشق في........ / ...... / ..... **توقيع الباحث** :..

6- بطاقة الإستبيان:

جمعت معلومات كل فرد من أفراد الدراسة في البطاقة التالية:

جامعة دمشق
كلية الصيدلة
قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة

استمارة مريض خاصة ببحث ماجستير
المشفى:...............................
الرقم:..........التاريخ:................

مسببات التهاب المفاصل الروماتويدي في جمهرةٍ سوريةٍ: HPV-47 وHLA-II

الصيدلاني: جميل مراد **إشراف: أ.د. فوزة منعم**

<u>معلومات شخصية:</u>

الإسم: .... العمر: .... الجنس: .... رقم إضبارة المشفى: ....

العنوان: .... رقم الهاتف: .... المهنة: ....

الوضع العائلي: .... هل الولدين أقارب: .... درجة قربى الولدين: ....

تاريخ بدء المرض: .... إصابة أحد الوالدين: .... إصابة الأقارب أو الأبناء: ....

الإصابة بالعداوى الفيروسية	**الإصابة بأمراض مناعة ذاتية**	**الإصابة بحالة كرب قبل المرض**
○ جدري الماء	○ سكري نمط أول	○ ....
○ حصبة	○ ذئبة حمامية	○ ....
○ نكاف	○ فرط نشاط درق	○ ....
○ HAV	○ قصور درق	○ ....
○ حصبة ألمانية	○ الْتِهابُ الفَقارِ الرُّوماتويديّ	○ ....

<u>أمراض أخرى:</u>

....

....

7- الإعتيان Sampling:

- سحبت عينات دم وريدية وجمع 3 مل منها على أنبوب جاف و 2 مل على أنبوب EDTA
- ثقّلت عينة الأنبوب الجاف بسرعة 4000 دورة/دقيقة مدة 10 دقائق، ووزّع المصل على ثلاث أنابيب ميكروية
- حفظت العينات المصلية عند الدرجة – 80 سلسيوس لحين إجراء المقايسات
- حفظت عينات الدم الكامل عند الدرجة 4 سلسيوس لحين استخلاص الدنا DNA
- بعد الاستخلاص، حفظت عينات الدنا عند الدرجة – 80 سلسيوس لحين إجراء التنميط الجزيئي

8- الطرق و المواد المستخدمة Materials and Methods:

الأدوات المستخدمة:

1. محاقن syringes حجم 5 مل
2. أنابيب لجمع الدم جافة عقيمة حجم 4 مل (Greiner Bio-One, Kremsmuster, Austria)
3. أنابيب لجمع الدم عقيمة حجم 2 مل تحوي 100µL K_3EDTA بتركيز 8% (Greiner Bio-One, Kremsmuster, Austria)
4. أنابيب ميكرورية عقيمة حجم 1.5 مل (Eppendorf, Hamburg, Germany)
5. ممصات باستور Pasteur Pipettes عقيمة (Greiner Bio-One, Kremsmuster, Austria)
6. رؤوس ممصات عقيمة مفلترة sterile filter tips، بحجوم 10µL، و 100µL، و1000µL (Eppendorf, Hamburg, Germany)
7. أطباق ميكرووية، 96 بئر، عالية الإلفة (R&D, Minneapolis, USA)

الأجهزة المستخدمة:

1. مثفلة centrifuge مبردة (Eppendorf, Hamburg, Germany)
2. مثفلة أنابيب ميكروية microcentifuge (Eppendorf, Hamburg, Germany)
3. الدوار الحراري GeneAmp PCR System 9700, Thermal Cycler (Applied Biosystems, California, USA)
4. جهاز رحلان كهربائي electrophoresis apparatus (Micro SSP™ Gel System, One Lambda, California, USA)

5. جهاز توثيق الهلام Gel Documentation System
(G:Box, Syngene, Cambridge, UK)
6. 96-Well Transfer Device (One Lambda, California, USA)
7. جهاز قارئ ELISA (Sunrise Remote, Tecan, Grödig, Austria)

1-8- مقايسة أضداد الببتيد الفيروسي $HPV\text{-}47\ E2_{345-362}$ المسترل:

تمت مطابقة تتاليات جميع البروتينات الفيروسية المنشورة مع التتالي المستضدي للـ $Profilaggrin_{306-324}$ (Schellekens et al 1998)[85] بواسطة برنامج BLAST (أداة بحث الإرتصاف الموضعي الأساسي basic local alignment search tool program) عبر المركز الوطني لمعلومات البيوتكنولوجيا National Center for Biotechnology information (NCBI).

وجد أن الببتيد الفيروسي $HPV\text{-}47\ E2_{345-362}$ ذو التتالي GNTRGRGRGRQGRAGSSG هو الأكثر تماثلاً مع الـ $Profilaggrin_{306-324}$ بنسبة 68%. ثم طلب تصنيع المستضد الفيروسي السابق، لكن باستبدال الأرجنين 348 بالسيترولين بنقاوة 90%، من شركة pi-Proteomics (Hutsville, AL, USA). اختير موقع استبدال الأرجنين بالسيترولين في الببتيد الفيروسي مقارباً لموقع الأرجنين المستبدل في الـ $Profilaggrin_{306-324}$ المسترل الذي حدده Schellekens وزملاؤه.[85] غُلِّفت أطباق ميكروية بالببتيد الفيروسي المسترل للكشف عن وجود أضداده في أمصال المرضى والمجموعة الشاهدة.

1-1-8: تحضير طبق الـ ELISA و تغليفه بالمستضد $HPV\text{-}47\ E2_{345-362}$:

تم تحضير الأطباق باعتماد طريقة Holtzhauer 2006 [101] للـ ELISA غير المباشرة.

المواد المستخدمة:

1- وقاء كربوني pH= 9.6[101]
2- 0.05% توين 20 Tween (وزن/حجم) في وقاء فوسفاتي مساوي التوتر phosphate buffered saline (PBS-T)[101]
3- 0.05% توين 20 (وزن/حجم)، 0.1% ألبومين مصلي في PBS [101]
4- o-phenylenediamin (OPD) بتركيز 0.4mg/mL و0.5µL/mL ماء أكسيجيني 30% في وقاء سيترات pH=5[101]
5- حمض كبريت بتركيز 1M [101]
6- الببتيد الفيروسي المسترل $HPV\text{-}47\ E2_{345-362}$
(pi-Proteomics, Hutsville, AL, USA)

7- أضداد الـ IgG البشري (مصدرها الماعز) goat anti-human IgG الموسومة بالبيروكسيداز (Promega, Wisconsin, USA)

8- أطباق ميكروورية، 96 بئر، عالية الإلفة (R&D, Minneapolis, USA)

2-1-8: مراحل التحضير والمقايسة:

تمت مراحل التحضير والمقايسة بالاعتماد عل طريقة Holtzhauer للامتزاز المَناعِيِّ المُرْتَبِطِ بالإِنْزِيْم الامباشر indirect ELISA:[101]

1- اذابة الببتيد في الوقاء الكربوني pH= 9.6 للحصول على تركيز 50 µg/mL

2- إضافة 100 µL من المحلول السابق إلى آبار الطبق الميكروووي و تحضن لمدة ساعة في درجة حرارة الغرفة على رجاجة.

3- تغسل الآبار بـ 200 µL PBS-T ثلاث مرات.

4- يضاف 200 µL محلول الألبومين المصلي إلى الآبار لحجب المناطق الفارغة، تحضن لمدة ربع ساعة في درجة حرارة الغرفة على رجاجة.

5- تغسل الآبار بـ 200 µL PBS-T ثلاث مرات.

6- إضافة 100 µL من مصل المريض الممدد 100 مرة إلى الآبار، تحضن لمدة نصف ساعة في درجة حرارة الغرفة على رجاجة.

7- تغسل الآبار بـ 250 µL PBS-T ثلاث مرات.

8- إضافة 100 µL من أضداد الـ IgG البشري الموسومة بالبيروكسيداز بتمديد 2500 مرة (تعليمات الشركة المصنعة) إلى الآبار ، تحضن لمدة نصف ساعة في درجة حرارة الغرفة على رجاجة.

9- تغسل الآبار بـ 250 µL PBS-T ثلاث مرات.

10- إضافة 100 µL من محلول OPD إلى الآبار، تحضن لمدة نصف ساعة في الظلام.

11- إضافة 100 µL حمض الكبريت 1M لإقاف التفاعل الأنزيمي.

12- تقرأ شدة الإمتصاص عند طول موجة 490 ηm باستخدام جهاز قارئ الـ ELISA

2-8- مقايسة أضداد الببتيد السيتروليني الحلقي نمط IgG:

تمت المقايسة باستخدام عتيدة 2nd genetation Anti-CCP ELISA (EUROIMMUN, Lübeck, Germany) التي تعتمد مبدأ الـ ELISA غير المباشرة. اتبعت تعليمات الشركة المصنعة في المقايسة.

3-8- التنميط الجيني Genotyping:

تم استخلاص DNA من 300 µL دم كامل (EDTA) باستخدام عتيدة High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

أجري التنميط الجيني للـ HLA-DRB1 باستخدام عتيدة Micro SSP™ Generic HLA (DRB1) (One Lambda, CA, USA). اتبعت تعليمات الشركة المصنعة في التنميط الجيني.

4-8- معالم أخرى:

تم الحصول على قيم البروتين المتفاعل C (C-reactive protein) (CRP) وسرعة التثفل (erythrocyte sedimentation rate) (ESR) وقيمة فعّاليَّة المرض في 28 مِفْصَلاً (Disease Activity Score 28) (DAS28) من ملفات المرضى.

5-8- الدراسة الإحصائية :

جرى التعبير عن القيم بالمتوسط الحسابي و الإنحراف المعياري و مجال القيم لكل مجموعة.

استخدم معامل Pearson لدراسة علاقة الإرتباط بين تراكيز أضداد المستضد الفيروسي $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ والمعالم المخبرية والسريرية المستخدمة في تشخيص الـ RA.

فُحص توافق الأنماط الجينية للمجموعة الشاهدة مع توازن Hardy-Weinberg [102, 103] باسخدام برنامج pypop الإحصائي[104] (International Histocompatibility Working Group) (Seattle, WA, USA) المعتمد على طريقة Guo وThompson.[105]

اعتمد الـ Odds Ratio (OR) و معامل الثقة 95% (confidence interval CI95%) للتعبير عن قوة إرتباط تواتر ألائل الـ HLA DRB1 عند مرضى الـ RA والأسوياء. استخدمت تصحيحات Haldane لحساب الـ OR وCI95% عندما يكون أحد المعالم مساوياً للصفر.[106] استخدم إختبار كاي مربع (Chi-squared) وT-Student لتحديد الدلالة الإحصائية. اعتمدت $P<0.05$ كقيمة يعتد بها إحصائياً.

استخدم منحني ROC (Receiver Operating Characteristic) بين الحساسية و(1- النوعية) لتراكيز أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل المصلية لحساب القيمة القاطعة cut off value.

اعتمدت المساحة تحت منحنى ROC (Area Under The Curve AUC) لتحديد القيمة التشخيصية لأضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل.

استخدم برنامج SPSS 19 (Chicago, IL, USA) وبرنامج Windows Microsoft Excel (Redmond, WA, USA) للتحليل الإحصائي.

9- النتائج Results:

9-1- قيم CRP، وESR، وDAS28 :

حُسِبَ المتوسط والإنحراف المعياري للمعالم المعتمدة من ملفات المرضى وكانت كالتالي:

- CRP 33.07 ملغ/ليتر ± 42.31
- ESR 48.98 مم/ساعة ± 25.92
- DAS28 5.3 ± 1.38

9-2- أضداد الببتيد المسترل الحلقي Anti CCP:

جرت مقايسة Anti CCP لدى المرضى فتراوحت النتائج بين 0.09 – 268 وحدة نسبية (relative unit RU) بمتوسط 111.27± 98.95 (القيمة الحدية Cut off 6.4 وحدة نسبية). تم حساب الحساسية باستخدام العلاقة التالية:

عدد الإيجابية الحقيقية (True positive TP) x 100/عدد المرضى الكلّي= 71.87%.

9-3- أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل:

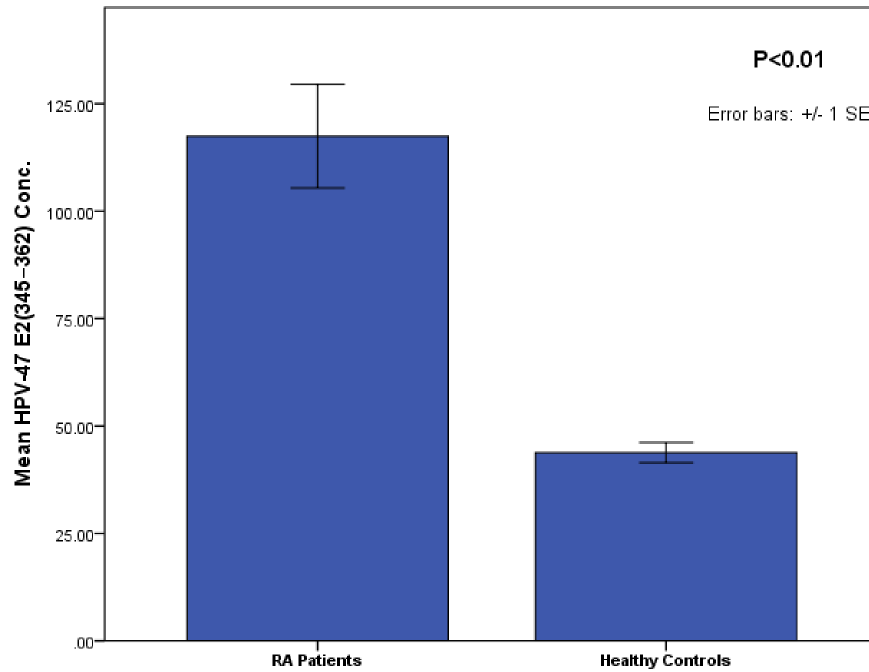
جرت مقايسة أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ للمرضى و الأسوياء. ثُمَّ حُسِبَ تركيز الأضداد باستخدام المعادلة التالية:

الوحدات الإعتباطية (Arbitrary Units AU)= [الكثافة البصرية للببتيد - الكثافة البصرية للخلفية غير النوعية]الإختبار المصلي/[الكثافة البصرية للببتيد - الكثافة البصرية للخلفية غير النوعية]الشاهد الإجابي X 100

$$AU = \left[OD_{\text{peptide}} - OD_{\text{non-specific background}}\right]_{\text{test serum}} \Big/ \left[OD_{\text{peptide}} - OD_{\text{non-specific background}}\right]_{\text{positive control serum}} \times 100.$$

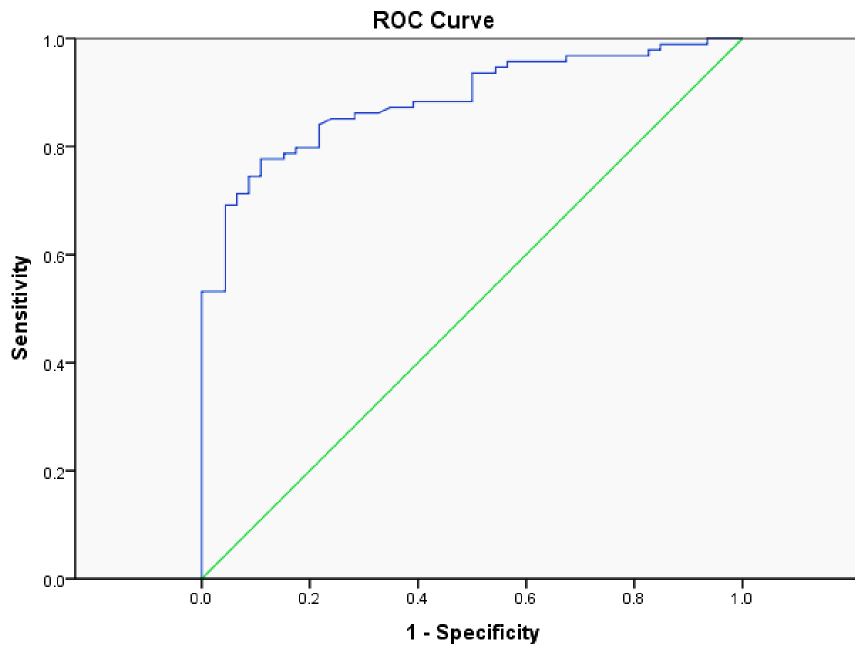
تم الحصول على الشاهد الإيجابي (positive control) من جميعة مصلية لأربع مرضى ذات تركيز Anti CCP مرتفع.

تراوحت تراكيز أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل عند المرضى بين 20.1 – 456.23 وحدة اعتباطية (AU) بمتوسط 116.68 ± 1.77؛ و تراوحت تراكيز أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل عند الأسوياء بين 12 – 79.29 وحدة اعتباطية (AU) بمتوسط 43.79 ± 15.87 (P<0.01، الشكل 15).



الشكل15: متوسط تراكيز أضداد $E2_{345-362}$ HPV-47 المسترل عند مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي RA patients و الأسوياء healthy controls

لحساب القيمة التشخيصية لتراكيز أضداد HPV-47 $E2_{345-362}$ المسترل، تم انشاء ROC curve بين الحساسية على محور العينات و1 – النوعية على محور السينات (الشكل 16، الجدول 14)، وحسبت المساحة تحت المنحني R = 0.886.



الشكل16: رسم ROC curve بين (الحساسية) و(1 – النوعية) لتراكيز أضداد HPV-47 $E2_{345-362}$

جدول 14: الحساسية و النوعية لبعض تراكيز أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل.

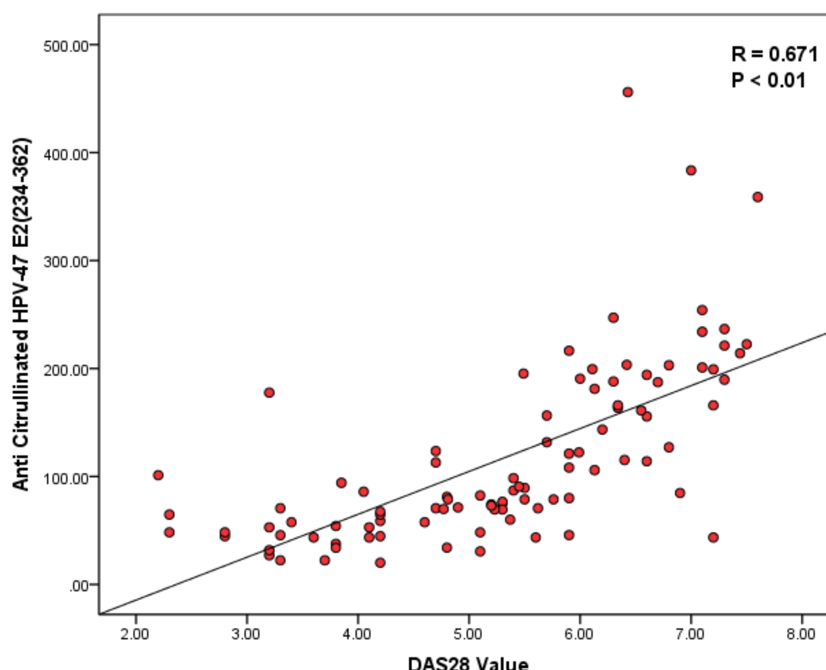
النوعية	**%69.6**	**%80.4**	**%89.1**	**%95.7**	**%100**
الحساسية	%86.2	%79.8	%77.7	**%69.1**	%53.2
تركيز الأضداد	53.315	58.735	61.95	**68.275**	79.645

تم الحصول على النوعية والحساسية من بيانات منحني ROC باستخدام برنامج SPSS 19

اعتمدت القيمة القاطعة cut off value عند النوعية 95.7% (الجدول 14)، وقُسِّم مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي إلى مجموعتين: إيجابيي و سلبيي أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل.

4-9- دراسة علاقة الارتباط بين أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل والملامح السريرية Clinical features:

وُجِدت علاقة ارتباط إيجابية بين أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل وقيم الـ DAS28 ($R=0.671$, $P<0.01$ الشكل 17)



الشكل17: علاقة الرتباط بين تركيز أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل وقيم الـ DAS28

5-9- توزع أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل عند مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي (RA) و المجموعة الشاهدة:

أظهرت دراسة توزع قيم أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل الإيجابية في أمصال مرضى الـ RA والمجموعة الشاهدة، توزعاً مرتفعاً عند المرضى ($OR=41.8$؛ CI95%: 19.38-90.14؛ $P<0.0001$؛ الجدول 15)

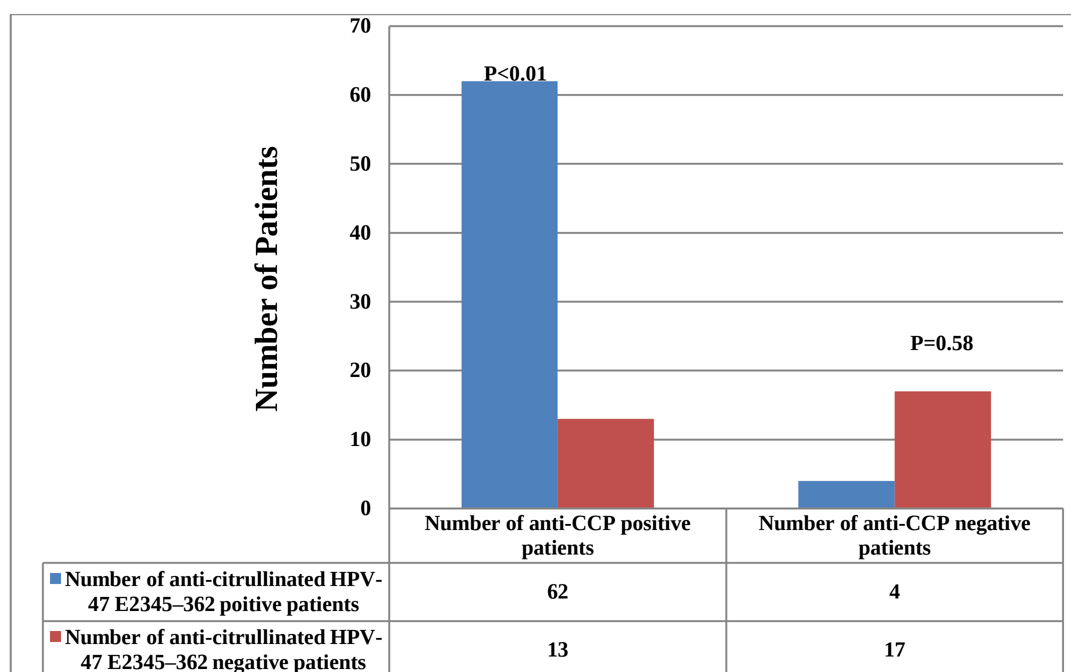
جدول 15: توزع قيم أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل عند مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي (RA) والمجموعة الشاهدة

أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل	المرضى (n=96)	المجموعة الشاهدة (n=200)	OR (CI95%)	P
إيجابية	66	10	41.8(19.38-90.14)	0.0001>
سلبية	30	190		

OR= Odds ratio؛ CI95%= معـــــــامل الثقة عند confidence interval%95 ؛ استخدم كاي مربع للدلاة الإحصائية عند P<0.05.

6-9- علاقة الارتباط بين أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل وقيم أضداد الببتيد المسترل الحلقي:

كان عدد ايجابيي أضداد الببتيد المسترل الحلقي مرتفعاً وبدلالة احصائية يعتد بها في مجموعة المرضى ايجابيي اضداد الـ HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل ($P<0.01$) بينما لم يلاحظ أي ارتفاع ذي دلالة إحصائية عند مجموعة سلبيي أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل (الشكل 18).

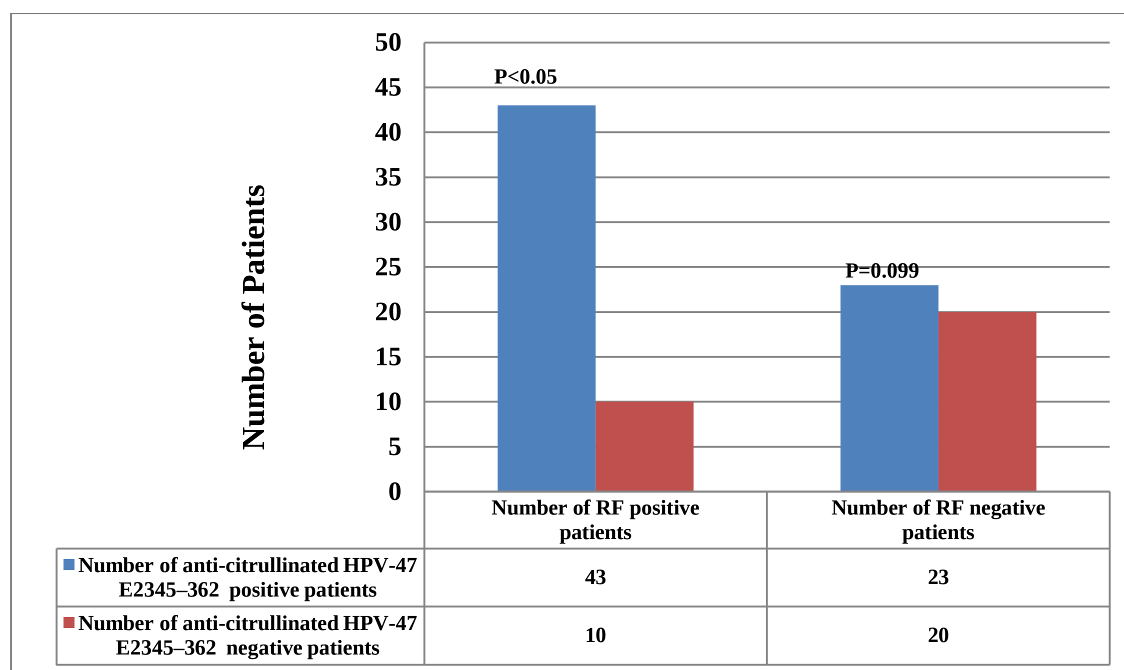


الشكل18: علاقة الارتباط بين أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل و أضداد الببتيد المسترل الحلقي Anti-CCP antibodies.

استخدم T-Student للدلاة الإحصائية عند P<0.05

7-9- دراسة علاقة الارتباط بين قيم أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل والعامل الروماتويدي:

كان عدد ايجابيي العامل الروماتويدي RF مرتفعاً وبدلالة احصائية يعتد بها في مجموعة المرضى ايجابيي اضداد الـ HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل ($P<0.05$) على عكس مجموعة سلبيي أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل ($P>0.05$ الشكل 19).



الشكل19: علاقة الارتباط بين أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل والعامل الروماتويدي RF.
استخدم T-Student للدلاة الإحصائية عند P<0.05

9-8- علاقة ارتباط أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل مع كل من CRP وESR وDAS28:

حُلِّلَت علاقة الارتباط بين أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل و بعض المعالم المخبرية (الجدول 16)، فلوحظ ارتفاعاً ملحوظاً في قيم DAS28 وCRP عند إجابيي أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل مقارنةً مع سلبيي هذه الأضداد (P<0.01، P<0.05 على التتالي). تبين أن إيجابية Anti-CCP وRF مرتفعة ارتفاعاً يعتد به عند إجابيي أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل (P<0.01). لم تظهر قيم سرعة التثفل أي فارق إحصائي بين المجموعتين (P>0.05).

جدول 16: علاقة ارتباط أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل مع المعالم المخبرية والسريرية (CRP وESR وDAS28):

Clinical & laboratory features	Anti-citrullinated HPV-47 $E2_{345–362}$ antibodies		P
	Positive (n=66)	Negative (n=30)	
DAS28 ($\bar{x} \pm std$)	5.87 ± 1.09	4.04 ± 1.08	<0.01
Anti-CCP %	82.66%	19%	<0.01
RF %	81.13%	33.33%	<0.01
ESR mm/hr ($\bar{x} \pm std$)	46.89 ± 26.17	53.60 ± 44.20	>0.05
CRP mg/L ($\bar{x} \pm std$)	37.83 ± 45.26	22.62 ± 33.31	<0.05

DAS28: قيمة فعّاليَّة المرض في 28 مِفصَلاً؛ Anti-CCP: أضداد البروتين الحلقي المسترل؛ RF: العامل الروماتويدي؛ ESR: سرعة تثفل الكريات الحمراء؛ CRP: البروتين المتفاعل C، $\bar{x}$: المتوسط؛ *std*: الإنحراف المعياري؛ استخدم T-Student للدلاة الإحصائية عند P<0.05

9-9- توزع تواتر ألائل HLA-DRB1 عند مرضى الـ RA إيجابيي وسلبيي أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل:

أظهرت نتائج توزع تواتر ألائل HLA-DRB1 تواتراً مرتفعاً لـ HLA-DRB1*11 عند إيجابيي أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل [(OR=3.11) (CI95%:1.03-9.41) (P<0.05)] عند مرضى الـ RA إيجابيي أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل، بينما ظهر تواتراً مرتفعاً لـ HLA-DRB1*08 و13* عند مرضى الـ RA سلبيي أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل (الجدول 17).

جدول17 : توزع تواتر ألائل HLA-DRB1 عند مرضى الـ RA إيجابيي وسلبيي أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل

Genotype HLA-DRB 1	Cit. $E2_{345–362}$ pos. (2n= 132)		Cit. $E2_{345–362}$ neg. (2n= 60)		Statistical analysis	
	n	**AF (%)**	**n**	**AF (%)**	**OR (95%CI)**	**P value**
DRB1*01	11	8.33	7	11.66	0.69 (0.25 – 1.87)	0.463
DRB1*03	8	6.06	6	10	0.58 (0.19 – 1.75)	0.33
DRB1*04	50	37.87	16	26.66	1.68 (0.86 – 3.28)	0.129
DRB1*07	6	4.54	6	10	0.43 (0.13 – 1.39)	0.148
DRB1*08†	0	0	4	6.66	0.05 (0.00 – 0.89)	0.004
DRB1*09†	1	0.76	0	0	1.38 (0.06 – 34.37)	0.844
DRB1*10†‡	10	7.57	0	0	10.37 (0.6 – 179.96)	0.048
DRB1*11	24	18.18	4	6.66	3.11 (1.03 – 9.41)	0.036
DRB1*13	4	3.03	9	15	0.18 (0.05 – 0.60)	0.002
DRB1*14	8	6.06	2	3.33	1.58 (0.38 – 9.94)	0.442
DRB1*15	7	5.30	4	6.66	0.78 (0.22 – 2.79)	0.706
DRB1*16	3	2.27	2	3.33	0.67 (0.11 – 4.15)	0.667
SE positive	79	59.84	26	43.33	1.95 (1.05 – 3.62)	0.033

SE= الحاتمات المشتركة shared epitopes؛ AF%= النسبة المئوية لتواتر الألائل؛ OR= Odds ratio؛ 95%CI= معـامل الثقة عند 95%confidence interval ؛ استخدم كاي مربع للدلاة الإحصائية عند P<0.05. † استخدمت تصحيحات Haldane في حساب OR و95%CI. ‡ تواتر أليل DRB1 *10 لم يعتد به أحصائياً لأن الرقم واحد جاء بين حدّي الـ 95%CI

لم تظهر ألائل HLA-DRB1 الأخرى أي تواترٍ ذي دلالة إحصائية. لوحظ تواتراً مرتفعاً للحاتمات المشتركة shared epitopes (مجموع تواتر DRB1*01، و04*، و10*، و14*) عند مرضى الـ RA إيجابيي أضداد $HPV\text{-}47\ E2_{345–362}$ المسترل مقارنةً بالسلبيين [(OR=1.95) (CI95%:1.05-3.62) (P<0.05)].

9-10- توزع تواتر ألائل HLA-DRB1 عند مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي (RA) والأسوياء:

أظهرت نتائج توزع تواتر ألائل HLA-DRB1 عند مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي و الأسوياء تـواتـراً مـرتفـعاً لكـل من HLA-DRB1 *01، و*04، و*10 عند المرضى [(OR=2.33) (95%CI: 1.15-4.72) (P=0.016)؛ (OR=3.31) (95%CI: 2.21-4.96) (P<0.0001)؛ (OR=2.54) (95%CI: 1.15-5.61) (P=0.017) على التوالي(الجدول 18)]. كما تبين أن HLA-DRB1 *11 و*13 أكثر تواتراً عند الأسوياء [(OR=0.49) (95%CI: 0.31-0.78) (P=0.002)؛ (OR=0.32) (95%CI: 0.15-0.65) (P=0.001) على التوالي (الجدول 18)].

جدول 18: توزع تواتر ألائل HLA-DRB1 عند مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي (RA) و المجموعة الشاهدة

Genotype HLA-DRB 1	RA (2n= 192)		Controls (2n= 400)		Statistical analysis	
	n	AF (%)	n	AF (%)	OR (95%CI)	P
DRB1*01	17	8.85	16	4	2.33 (1.15- 4.72)	0.016
DRB1*03	13	6.77	38	9.5	0.69 (0.36- 1.33)	0.269
DRB1*04	69	35.93	58	14.5	3.31 (2.21- 4.96)	< 0.0001
DRB1*07	13	6.77	44	11	0.59 (0.31- 1.12)	0.102
DRB1*08	2	1.04	7	1.75	0.59 (0.12- 2.87)	0.509
DRB1*09	1	0.52	2	0.5	1.04 (0.09- 11.56)	0.973
DRB1*10	14	7.29	12	3	2.54 (1.15- 5.61)	0.017
DRB1*11	27	14.06	100	25	0.49 (0.31- 0.78)	0.002
DRB1*12†	0	0.0	6	1.5	0.16 (0.01 – 2.81)	0.149
DRB1*13	9	4.68	54	13.5	0.32 (0.15- 0.65)	0.001
DRB1*14	11	5.73	23	5.75	1.00 (0.48- 2.09)	0.992
DRB1*15	11	5.73	37	9.25	0.60 (0.30- 1.20)	0.142
DRB1*16	5	2.60	3	0.75	3.54 (0.84- 14.96)	0.067
SE positive	108	56.25	110	27.5	3.39 (2.37- 4.86)	<0.0001

SE= الحاتمات المشتركة shared epitopes؛ AF%= النسبة المئوية لتواتر الألائل؛ OR= Odds ratio؛ 95%CI= معـامل الثقة عند 95% confidence interval 95%؛ استخدم كاي مربع للدلالة الإحصائية عند P<0.05. † استخدمت تصحيحات Haldane في حساب OR و95%CI

لم تظهر ألائل HLA-DRB1 الأخرى أي دلالة إحصائية. أظهر تواتر الائل الحاتمات المشتركة SE (مجموع تواتر DRB1 *01، و*04، و*10، و*14) ارتفاعاً عند المرضى [(OR=3.39) (95%CI: 2.37-4.86) (P<0.0001)] بالمقارنة مع الأسوياء.

9-11- علاقة ارتباط ألائل الحاتمات المشتركة مع أضداد الببتيد المسترل الحلقي Anti-CCP والعامل الروماتويدي RF عند مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي RA:

وجدت أضداد الـ CCP عند 64.58% من مرضى الـ RA و الـ RF عند 66.66%. بيَّن تواتر أضداد الـ CCP والـ RA ارتفاعاً ملحوظاً عند المرضى مقارنةً بالأسوياء [(OR=4.65) (95%CI:1.82-11.82) (P<0.001)؛ (OR=3.72) (95%CI:1.5-9.22) (P<0.01) على التوالي (الجدول 19)]

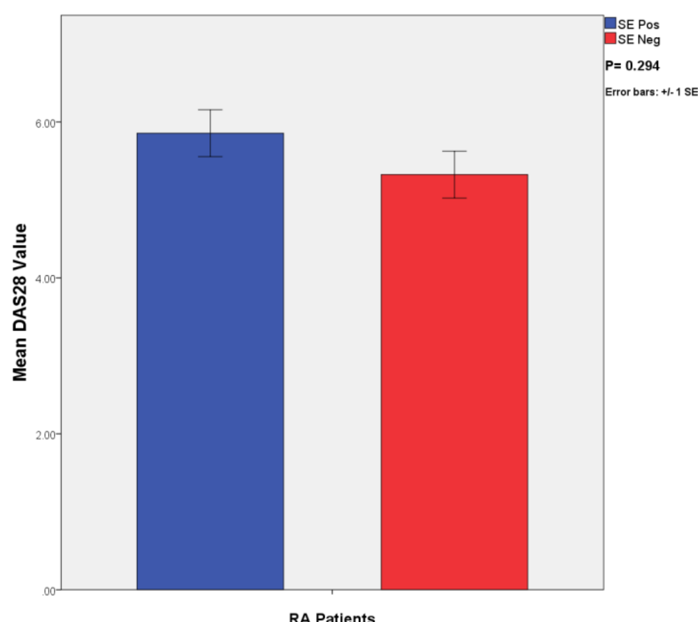
جدول19: ارتباط ألائل الحاتمات المشتركة مع أضداد الببتيد المسترل الحلقي Anti-CCP والعامل الروماتويدي RF عند مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي RA (n=96)

SE status	SE positive (n=68)	SE Negative (n=28)	OR (CI95%)	P value
Anti-CCP positive	51 (75%)	11 (39.28%)	4.64 (1.82 – 11.82)	0.00088
Anti-CCP negative	17 (25%)	17 (60.72%)		
RF positive	53 (78%)	11 (39.28%)	3.72 (1.5 – 9.22)	0.0035
RF negative	22 (32%)	17 (60.72%)		

SE= الحاتمات المشتركة shared epitopes؛ AF%= النسبة المئوية لتواتر الألائل؛ OR= Odds ratio؛ 95%CI= معــــــــــــــامل الثقة عند 95%confidence interval ؛ Anti-CCP: أضداد البروتين الحلقي المسترل؛ استخدم كاي مربع للدلالة الإحصائية عند P<0.05.

9-12- العلاقة بين وخامة المرض disease severity والحاتمات المشتركة SE عند مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي:

لم تظهر وخامة المرض disease severity، المتمثلة بقيم الـ DAS28، أي علاقة ذات دلالة احصائية بين المرضى إيجابيي و سلبيي الحاتمات المشتركة shared epitopes (P>0.05 الشكل 20).



الشكل20: العلاقة بين متوسط قيم الـ DAS28 والحاتمات المشترمة SE عند مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي RA patients
استخدم T-Student للدلاة الإحصائية عند P<0.05

10- المناقشة Dicussion:

تعد هذه الدراسة الثانية عالمياً بعد Shi وزملاؤه 2008 [51] من خلال دراسة علاقة HPV-47 مع التهاب المفاصل الروماتويدي RA. أثبت Shi وزملاؤه وجود إيجابية لأضداد $E2_{345–362}$ HPV-47 المسترل في أمصال مرضى الـ RA بالمقارنة مع مصول مرضى مصابين بأمراض روماتويدية أخرى. تشير النتائج التي حصلنا عليها في هذا البحث على تفاعل أمصال مرضى الـ RA مع الببتيد المسترل بشكل واضح مقارنةً بالأسوياء (P<0.01). بالإضافة إلى ذلك يمتلك الببتيد الفيروسي المسترل قيمة تشخيصية، بحساسية 95.2% ونوعية 69.1%. يدعم تفاعل أمصال مرضى الـ RA مع $E2_{345–362}$ HPV-47 المسترل نظرية تحريض الفيروسات للأضداد الذاتية ويمكن أن يفتح آفاقاً جديدة لتفسير الآلية المؤدية إلى إنتاج هذه الأضداد في الـ RA.

أكدت دراستنا أن سترلة citrullination تتاليات حموض أمينية من R وG تزيد القدرة المستضدية التي يمكن اعتبارها مظاهر مميزة في التهاب المفاصل الروماتويدي. أثبت Schellekens وزملاؤه 1998 أن السيترولين هو العنصر الرئيسي للمكونات المستضدية التي تتعرف عليها الأضداد المتواجدة في أمصال مرضى الـ RA.[85] في دراسة أخرى أثبت Union وزملاؤه 2002 أن تتاليات الأرجنين (R) والغليسين (G) في الفيلاغرين fillagrin هي مواقع السترلة المحيطية.[107] يحتوي البروتين المنظم للإنتساخ HPV-47 E2 في التسلسل الأميني بين 345 و362 تتاليات الأرجنين والغليسين مشابهة للتتاليات المتواجدة في الحاتمات المستضدية للـ RA.[51] في دراسةٍ مشابهة، درس Pratesi وزملاؤه 2006 أضداد ببتيد EBNA-1 (Epstein-Barr Virus Nuclear Antigen) المسترل الذي يحتوي على تتاليات G-R أيضاً؛ فأظهرت هذه الأضداد إيجابية في أمصال مرضى الـ RA.[108]

للبحث عن ارتباط HPV-47 مع الـ RA، دُرِسَت علاقة أضداد $E2_{345–362}$ HPV-47 المسترل مع معالم الـ RA السريرية والمخبرية. بيَّنت نتائجنا ارتباطاً ملحوظاً بين المظاهر السريرية، ممثلةً بقيم DAS28، وتراكيز أضداد $E2_{345–362}$ HPV-47 المسترل عند المرضى(P<0.01). كذلك أظهرت النتائج ارتفاعاً في إيجابية الـ Anti-CCP وRF عند المرضى إيجابيي أضداد $E2_{345–362}$ HPV-47 المسترل (P<0.01، P<0.05 على التوالي) بينما لم يظهر أي فارق ذي دلالة إحصائية عند المرضى سلبيي أضداد الببتيد المسترل. في دراسات سابقة، أُثبت ارتباط مستويات أضداد الـ CCP وأضداد الفيبرينوجين المسترل مع قيم الـ DAS28 ومع تقدُّم التصوير الشعاعي للمرض radiographic progression of the disease.[109, 110] عند المقارنة بين المرضى إيجابيي وسلبيي أضداد $E2_{345–362}$ HPV-47 المسترل، لوحظ ارتفاعاً في قيم الـ DAS28 وCRP و إيجابية الـ Anti-CCP وRF (P<0.01، P<0.05، P<0.01، P<0.01 على

التوالي)؛ وعلى العكس من ذلك لم تظهر قيم سرعة التثفل أي فارق إحصائي بين المجموعتين (0.05>P).

أظهرت نتائجنا قيمة تشخيصية يُعَوَّل عليها للمستضد HPV-47 $E2_{345-362}$ المسترل بحساسية 69% ونوعية 95%، بينما كانت الحساسية 42% والنوعية 95% عند Shi وزملاؤه. يعزى إلى الاختلاف في طريقة تحضير وتغليل الأطباق الميكروية اختلاف المواد والوقاءات المستخدمة.

تناولت دراسات عدة الإنتشار البيوجغرافي لألائل الـ HLA المرتبطة بالتهاب المفاصل الروماتويدي لدى عدة إثنيات و أعراق حول العالم (الجدول 20).[22, 26, 111] أشارت العديد من التقارير حول العالم بوجود ارتباط بين HLA-DRB1*04 والتهاب المفاصل الروماتويدي.[127-112] لوحظ زيادة في تواتر DRB1*04 عند مرضى الـ RA في إيران[128] وعند الأميريكيين من أصول مكسيكية Mexican Americans[129] لكن من دون دلالة إحصائية. من جهةٍ أخرى لم يلاحظ أي علاقة ملحوظة بين DRB1*04 واستعداد الإصابة بالتهاب المفاصل الروماتويدي RA susceptibility في البيرو.[130] ارتبطت ألائل HLA أخرى بالتأهب للإصابة بالـ RA مثل HLA-DRB1*01 في تركيا[123, 127, 131] وإيطاليا[118] وفرنسا[122] وإسبانيا[114, 132] وفنلندا[124] والبرازيل[133] وفي باكستان وشمال الهند[134] واليابان؛[135] HLA-DRB1*09 في تركيا[123] والبرازيل[125] وماليزيا[136] وكوريا؛[137] HLA-DRB1*10 في السعودية[115] وإيران[128] وتايوان[138] والبرازيل[133] وفي شمال الهند وباكستان[134, 139] وشرق آسيا[117] والأميريكيّين من أصول أفريقية؛[120] HLA-DRB1*14 في البيرو[130] والإكوادور[140] والبرازيل[125] وعند الأميريكيّين من أصل مكسيكي.[129] بشكل إستثنائي، تم الإبلاغ عن HLA-DRB1*08 بأنها ترتبط بالإصابة بالـ RA في السعودية[115] وعن HLA-DRB1*15 في باكستان وشمال الهند[134] واليابان.[135] أظهرت نتائجنا أن الاستعداد للإصابة بالـ RA مرتبط مع DRB1*01، و04*، و10* مما يتوافق مع نتائج الدول القريبة. وبالرغم عدم وجود دلالة إحصائية، أظهرت ألائل DRB1*09 و14*، و16* تواتراً أعلى عند المرضى مقارنةً بالأسوياء.

ذُكِرَ الدور المحصِّن من الإصابة بالـ RA لبعض ألائل الـ HLA، المدروس على مجموعات مختلفة، في عدة مراجعات نظرية (الجدول 20).[22, 31, 34, 111] حيث كان للـ DRB1*03 دوراً محصّناً في إيران[128] وشرق آسيا؛[117] 05* في باكستان؛[139] 06* في السعودية؛[115] 07* في تونس[112] والمغرب[126] وفرنسا[122] والمكسيك[141] وسلوفاكيا[121] وفنلندا؛[124] وماليزيا[136] وفي باكستان وشمال الهند[134] وشرق آسيا؛[117] 08* عند الأميريكيّين من أصل مكسيكي؛[129] 11* في البرازيل[125, 133] والبيرو[130] والمكسيك[141] وفي باكستان وشمال الهند[134] وفنلندا[124]

والأميريكيّين من أصول أفريقية؛[120] و13* في تركيا[123, 131] وسلوفاكيا[121] وفرنسا[122] وفنلندا[124] والبرازيل[133] وفي باكستان وشمال الهند[134] وشرق آسيا.[117] في هذه الدراسة ارتبطت الـ DRB1*11 و13* ارتباطاً عكسياً مع الإصابة بالـ RA منبئةً بدورٍ محصّنٍ في مجتمعنا.

جدول 20: أنماط HLA-DRB1 المؤهبة للإتهاب المفاصل الروماتويدي في الدول المختلفة حسب الدراسات:

الدولة	نمط HLA-DRB1 المؤهب	نمط HLA-DRB1 المحصن	عدد الحالات المدروسة	عدد المجموعة الشاهدة	المرجع	السنة
اسبانيا(Galicia)	*01, *04	NA	179	145	Hajeer *et al*[114]	2000
اسبانيا(مدريد)	*01, *04	NA	68	929	Balsa *et al*[132]	2000
الإكوادور	*04, *14	NA	30	28	Arias *et al*[140]	2010
الأمريكان الأفارقة	*04, *10	*11	325	116	Hughes *et al*[120]	2008
الأمريكان المكسيكيين	*14	*08	141	54	del Rincon *et al*[129]	1999
أمريكا اللاتينية (meta analysis)	*04	NA	NA	NA	Delgado-Vega *et al*[116]	2007
البرازيل (Ribeirão Preto, Sao Paulo)	*01, *04, *10	*11	140	161	Louzada-Junior *et al*[133]	2008
البرازيل (Rio de Janeiro, Sao Paulo)	*04, *09, *14	*11, *13	412	215	Usnayo *et al*[125]	2011
السعودية	*04, *08, *10	*06	140	70	Al-Swailem *et al*[115]	2006
الصين (Shantou)	*04	NA	117	100	Xue *et al*[119]	2008
المغرب	*04	*07	49	183	Atouf *et al*[126]	2008
المكسيك(mestizo)	*04	*07,*11	84	99	Ruiz-Morales *et al*[141]	2004
المملكة المتحدة (Bath)	*04	NA	68	226	Balsa *et al*[132]	2000
اليابان	*01,*04, *15	NA	852	652	Yukioka *et al*[135]	1998
إيران (Zahedan)	*10	*03	79	93	Sandoughi *et al*[128]	2011
إيطاليا	*01, *04	NA	264	532	Bongi *et al*[118]	2004
باكستان وشمال الهند	*01, *10, *15	*07, *11, *13	107	122	Griffiths *et al*[134]	2000
باكستان	*10	*05	86	79	Hameed *et al*[139]	1997
بيرو	*14	*11	79	65	Castro *et al*[130]	2001
تايوان	*04, *10	NA	273	480	Liu *et al*[138]	2007
تركيا	*01, *04	*13	104	110	Kinikli *et al*[131]	2003
تركيا (Manisa)	*01, *04	NA	60	60	Dayan *et al*[127]	2010
تركيا (شرق البحر الأسود)	*01, *04, *09	*13	320	360	Ucar *et al*[123]	2012
تونس	*04	*07	90	100	Dhaouadi *et al*[112]	2010
سلوفاكيا	*04	*07, *13	520	303	Stark *et al*[121]	2009
شرق آسيا (meta analysis)	*01, *04, *10	*03, *07, *13	NA	NA	Jun *et al*[117]	2007
فرنسا (Marseille)	*01, *04	*07, *13	203	230	Reviron *et al*[122]	2001
فنلندا	*01, *04	*07, *11, *13	322	622	Laivoranta-Nyman *et al*[124]	2004
كوريا	*04, *09	*07, *08, *13	574	392	Lee *et al*[137]	2004
ماليزيا	*04, *09, *10	*07	133	167	Kong *et al*[136]	2002
دراستنا (سورية)	***01, *04, *10**	***11, *13**	**96**	**200**		**2012**

بالرغم من افتقار دراستـنا للتنميط الجيـني عالي الميز high resolution (رباعي العدد)، أظـهرت نتائــجنا علاقة حازمة (resolute relationship) بين الحاتمات المشتركة

(مجموع تواتر DRB1 *01، و*04، و*10، و*14) والتهاب المفاصل الروماتويدي، مما أيِّد دراسة Kazkaz وزملاؤها.[142]

لم تثبت العلاقة بين الحاتمات المشتركة ووخامة التهاب المفاصل الروماتويدي rheumatoid arthritis severity بشكل واضح.[143] أُشير إلى دور DRB1*0401 بزيادة وخامة الـ RA في شمال أوروبا[144] و هولندا[145] وشمال إيطاليا[146] وعند القوقازيين؛[147, 148] في حين حدّد ارتباط DRB1*0405 مع شدة المرض في كوريا.[149] بخلاف ذلك لم تظهر دراستنا أي ارتباط بين تواتر الحاتمات المشتركة والوخامة السريرية للـ RA، المتمثلة بقيم DAS28. توافقت نتائجنا مع الدراسات التي أجريت في تونس[112] وباكستان[139] وتركيا[131] واليونان.[150] بالرغم من ذلك، فإنَّ عدد المرضى المحدود في دراستنا لا يُمَكِّنُنا من عكس العلاقة بين ألائل الـ HLA-DRB1 ووخامة الـ RA بشكل جازم.

أيدت دراستنا النشرات السابقة التي أقرّت بوجود علاقة بين الحاتمات المشتركة وأضداد الببتيد الحلقي المسترل ACPAs و العامل الروماتويدي RF.[127, 133, 145, 151-153] إضافةً إلى ذلك، وجدنا علاقة إرتباط ملحوظة بين الحاتمات المشتركة وأضداد HPV-47 $E2_{345-362}$ المسترل لدى مرضى الـ RA (OR=1.95؛ CI95%: 1.05-3.62؛ P<0.05). بالرغم من الدور المحصِّن للـ DRB1*11، لوحظ زيادة في تواتر هذا الأليل عند مرضى الـ RA إيجابيي أضداد HPV-47 $E2_{345-362}$ المسترل. يمكن أن يكون ذلك عائداً إلى عوامل مؤهبة أخرى لعملية السترلة مثل الجينات المرمزة للجزيئات المقدمة للمستضد والجينات المرمزة للسيتوكينات.[154, 155] من جهةٍ أخرى وجدنا زيادة في تواتر الـ HLA-DRB1*08 و13* (لهما دور محصن من الإصابة بالـ RA) عند المرضى سلبيي أضداد HPV-47 $E2_{345-362}$ المسترل. يمكن أن يعزى ذلك إلى دور عوامل جينية غير HLA-DRB1 مؤهبة للـ RA مثل PTPN22 و TRAF1-C5 وCTLA4.[156-160]

11- الخلاصة Conclusion:

يحتمل أن يكون المستضد الفيروسي HPV-47 عاملاً مؤهباً للإصابة بالتهاب المفاصل الروماتويدي. يمكن الإستفادة من تحري وجود أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل في تشخيص المرض والتنبّؤ بفعاليته وتقدم شدّته. تلعب الألائل HLA-DRB1 *01، و*04، و*10 دوراً مؤهباً للإصابة بالتهاب المفاصل الروماتويدي و HLA-DRB1 *11 و*13 دوراً محصناً في المجتمع السوري.

12- التوصيات والمقترحات:

1- اجراء دراسة معمقة على HPV-47 بطرق أكثر نوعية و حساسية لتأكيد تورطه كعامل مؤهب للـ RA؛ وللإستفادة من أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل في التشخيص المبكر.
2- اعتماد نمط الـ HLA-DRB1*01 و04* و10* كعوامل اختطار في مجتمعنا والإستعانة بها في التَّنبُّؤ المبكر.
3- اجراء بحث موسع لدراسة علاقة الحاتمات المشتركة مع شدة التهاب المفاصل الروماتويدي.

13- المراجع References:

1. Rosen A. Mechanisms of autoimmunity. In: Rich R, et al., editors. Clinical Immunology. 3rd ed. Edinburgh: Mosby; 2008. p. 739-47.

2. Lleo A, Invernizzi P, Gao B, Podda M, and Gershwin ME. Definition of human autoimmunity — autoantibodies versus autoimmune disease. *Autoimmun Rev*. 2010;9(5):A259-66.

3. Rose N. Immunologic Diagnosis of Autoimmunity. In: O'Gorman M, Donnenberg A, editors. Handbook of Human Imunology 2nd ed. New York: CRC Press; 2008. p. 369-80.

4. Perl A. Pathogenesis and Spectrum of Autoimmunity. In: Perl A, editor. Autoimmunity: Humana Press; 2004. p. 1-8.

5. Kang I, and Craft J. Mechanisms of Autoimmune Disease. In: Wolff K, et al., editors. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2008. p.1509-14.

6. Lipsky P, and Diamond B. Autoimmunity and Autoimmune Diseases. In: Fauci A, et al., editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. 17th ed. New York: McGraw-Hill; 2008. p. 2071-4.

7. Haynes B, Soderberg K, and Fauci A. Introduction to the Immune System. In: Fauci A, et al., editors. Harison's Principles of Internal Medicine. 17th ed. New York: McGraw-Hill; 2008. p. 2019-45.

8. Polido-Pereira J, Vieira-Sousa E, and Fonseca JE. Rheumatoid arthritis: what is refractory disease and how to manage it? *Autoimmun Rev*. 2011;10(11):707-13.

9. Combe B. Progression in early rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2009;23(1):59-69.

10. Imboden JB. The immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Annu Rev Pathol*. 2009;4(1):417-34.

11. Cherukumilli VS, and Kavanaugh A. Elderly Onset Rheumatoid Arthritis. In: Nakasato Y, Yung RL, editors. Geriatric Rheumatology: Springer New York; 2011. p. 145-50.

12. Neumann E, Lefevre S, Zimmermann B, Gay S, and Muller-Ladner U. Rheumatoid arthritis progression mediated by activated synovial fibroblasts. *Trends Mol Med*. 2010;16(10):458-68.

13. Whiting PF, Smidt N, Sterne JA, Harbord R, Burton A, Burke M, Beynon R, Ben-Shlomo Y, Axford J, and Dieppe P. Systematic review: accuracy of anti-citrullinated Peptide antibodies for diagnosing rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med*. 2010;152(7):456-64; W155-66.

14. Ospelt C, and Gay S. Epigenetic Epidemiology of Inflammation and Rheumatoid Arthritis. In: Michels KB, editor. Epigenetic Epidemiology :Springer Netherlands; 2012. p. 289-305.

15. Jeffery RC. Clinical features of rheumatoid arthritis. *Medicine*. 2010;38(4):167-71.

16. Tobon GJ, Youinou P, and Saraux A. The environment, geo-epidemiology, and autoimmune disease: Rheumatoid arthritis. *J Autoimmun*. 2010;35(1):10-4.

17. Suchomel P, Buchvald P, and Choutka O. Rheumatoid Arthritis. In: Suchomel P, Choutka O, editors. Reconstruction of Upper Cervical Spine and Craniovertebral Junction. Berlin Heidelberg: Springer 2011. p. 235-46.

18. Reser JE, and Reser WW. Does rheumatoid arthritis represent an adaptive, thrifty condition? *Med Hypotheses*. 2010;74(1):189-94.

19. Alamanos Y, and Drosos AA. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*. 2005;4(3):130-6.

20. Carmona L, Cross M, Williams B, Lassere M, and March L. Rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2010;24(6):733-45.

21. Raychaudhuri S. Recent advances in the genetics of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2010;22(2):109-18.

22. de Vries R. Genetics of rheumatoid arthritis: time for a change! *Curr Opin Rheumatol*. 2011;23(3):227-32.

23. Turesson C, and Matteson EL. Genetics of rheumatoid arthritis. *Mayo Clin Proc*. 2006;81(1):94-101.

24. Bowes J, and Barton A. Recent advances in the genetics of RA susceptibility. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47(4):399-402.

25. Gregersen PK, Silver J, and Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1987;30(11):1205-13.

26. Kochi Y, Suzuki A, Yamada R, and Yamamoto K. Genetics of rheumatoid arthritis: underlying evidence of ethnic differences. *J Autoimmun*. 2009;32(3-4):158-62.

27. Holoshitz J. The rheumatoid arthritis HLA-DRB1 shared epitope. *Curr Opin Rheumatol*. 2010;22(3):293-8.

28. Carrasco R, and Barton A. Biomarkers of outcome in rheumatoid arthritis. *Rheumatology Reports*. 2010;2(1):26-38.

29. Raychaudhuri S, Sandor C, Stahl EA, Freudenberg J, Lee H-S, Jia X, Alfredsson L, Padyukov L, Klareskog L, Worthington J, Siminovitch KA, Bae S-C, Plenge RM, Gregersen PK, and de Bakker PIW. Five amino acids in three HLA proteins explain most of the association between MHC and seropositive rheumatoid arthritis. *Nat Genet*. 2012;advance online publication.

30. de Almeida DE, Ling S, and Holoshitz J. New insights into the functional role of the rheumatoid arthritis shared epitope. *FEBS Lett*. 2011;585(23):3619-26.

31. Perricone C, Ceccarelli F, and Valesini G. An overview on the genetic of rheumatoid arthritis: A never-ending story. *Autoimmun Rev*. 2011;10(10):599-608.

32. Quirke AM, Fisher BA, Kinloch AJ, and Venables PJ. Citrullination of autoantigens: upstream of TNFalpha in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *FEBS Lett*. 2011;585(23):3681-8.

33. Bax M, van Heemst J, Huizinga TW, and Toes RE. Genetics of rheumatoid arthritis: what have we learned? *Immunogenetics*. 2011;63(8):459-66.

34. Feitsma AL, van der Helm-van Mil AHM, Huizinga TWJ, de Vries RRP, and Toes REM. Protection against rheumatoid arthritis by HLA: nature and nurture. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(Suppl 3):iii61-3.

35. van der Woude D, Lie BA, Lundstrom E, Balsa A, Feitsma AL, Houwing-Duistermaat JJ, Verduijn W, Nordang GB, Alfredsson L, Klareskog L, Pascual-Salcedo D, Gonzalez-Gay MA, Lopez-Nevot MA, Valero F, Roep BO, Huizinga TW, Kvien TK, Martin J, Padyukov L, de Vries RR, and Toes RE. Protection against anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis is predominantly associated with HLA-DRB1*1301: a meta-analysis of HLA-DRB1 associations with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis in four European populations. *Arthritis Rheum*. 2010;62(5):1236-45.

36. Plenge RM, and Weinblatt ME. Molecular Basis of Rheumatoid Arthritis. In: Huntington FW, Geoffrey SG, editors. Genomic and Personalized Medicine. New York: Academic Press; 2009. p. 1017-31.

37. Zanelli E, Breedveld FC, and de Vries RR. HLA class II association with rheumatoid arthritis: facts and interpretations. *Hum Immunol*. 2000;61(12):1254-61.

38. Cutolo M, Villaggio B, Craviotto C, Pizzorni C, Seriolo B, and Sulli A. Sex hormones and rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*. 2002;1(5):284-9.

39. Islander U, Jochems C, Lagerquist MK, Forsblad-d'Elia H, and Carlsten H. Estrogens in rheumatoid arthritis; the immune system and bone. *Mol Cell Endocrinol*. 2011;335(1):14-29.

40. Hoovestol RA, and Mikuls TR. Environmental Exposures and Rheumatoid Arthritis Risk. *Curr Rheumatol Rep*. 2011:1-9.

41. Oliver JE, and Silman AJ. Risk factors for the development of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 2006;35(3):169-74.

42. Stanich JA, Carter JD, and Whittum-Hudson J. Rheumatoid arthritis: Disease or syndrome? . *OARRR*. 2009;1(1):179-92

43. Rashid T, and Ebringer A. Autoimmunity in Rheumatic Diseases Is Induced by Microbial Infections via Crossreactivity or Molecular Mimicry. *Autoimmune Diseases*. 2012;2012:1-9.

44. Moudgil KD, and Durai M. Epitope Spreading. In: Yehuda S, Noel RR, editors. Infection and Autoimmunity. Amsterdam: Elsevier; 2004. p. 19-43.

45. Bouquillard E, and Combe B. A report of 21 cases of rheumatoid arthritis following Chikungunya fever. A mean follow-up of two years. *Joint Bone Spine*. 2009;76(6):654-7.

46. Álvarez-Lafuente R, Fernández-Gutiérrez B, de Miguel S, Jover JA, Rollin R, Loza E, Clemente D, and Lamas JR. Potential relationship between herpes viruses and rheumatoid arthritis: analysis with quantitative real time polymerase chain reaction. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(9):1357-9.

47. Meron MK, Amital H, Shepshelovich D, Barzilai O, Ram M, Anaya JM, Gerli R, Nicola B, and Shoenfeld Y. Infectious aspects and the etiopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2010;38(2-3):287-91.

48. Balandraud N, Meynard JB, Auger I, Sovran H, Mugnier B, Reviron D, Roudier J, and Roudier C. Epstein-Barr virus load in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis: accurate quantification using real-time polymerase chain reaction. *Arthritis Rheum*. 2003;48(5):1223-8.

49. Albani S, Tuckwell JE, Esparza L, Carson DA, and Roudier J. The susceptibility sequence to rheumatoid arthritis is a cross-reactive B cell epitope shared by the Escherichia coli heat shock protein dnaJ and the histocompatibility leukocyte antigen DRB10401 molecule. *J Clin Invest*. 1992;89(1):327-31.

50. Watanabe K, Ohkubo Y, Funahashi Y, Nishimaki T, Moritoh T, Kasukawa R, Kaise S, Tomita T, and Matsukawa A. An investigation on rheumatoid factor of different immunoglobulin classes in hepatitis B virus crriers. *Clin Rheumatol*. 1991;10(1):31-7.

51. Shi J, Sun X, Zhao Y, Zhao J, and Li Z. Prevalence and significance of antibodies to citrullinated human papilloma virus-47 E2345-362 in rheumatoid arthritis. *J Autoimmun*. 2008;31(2):131-5.

52. Saal JG, Steidle M, Einsele H, Müller CA, Fritz P, and Zacher J. Persistence of B19 parvovirus in synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. 1992;12(4):147-51.

53. Ejtehadi HD, Freimanis GL, Ali HA, Bowman S, Alavi A, Axford J, Callaghan R, and Nelson PN. The potential role of human endogenous retrovirus K10 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: a preliminary study. *Ann Rheum Dis*. 2006;65(5):612-6.

54. Ebringer R, Colthorpe D, Young A, and Corbett M. Increased incidence of faecal Klebsiella pneumoniae in patients with HLA B7 CREG antigen and men with rheumatoid arthritis. *Br Med J*. 1980;281(6240):583-5.

55. Rosenau BJ, and Schur PH. Association of measles virus with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2009;36(5):893-7.

56. Ottenhoff TH, Torres P, de las Aguas JT, Fernandez R, van Eden W, de Vries RR, and Stanford JL. Evidence for an HLA-DR4-associated immune-response gene for Mycobacterium tuberculosis. A clue to the pathogenesis of rheumatoid arthritis? *Lancet*. 1986;2(8502):310-3.

57. Williams MH, Brostoff J, and Roitt IM. Possible role of Mycoplasma fermentans in pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Lancet*. 1970;2(7667):277-80.

58. Schaeverbeke T, Gilroy CB, Bebear C, Dehais J, and Taylor-Robinson D. Mycoplasma fermentans, but not M penetrans, detected by PCR assays in synovium from patients with rheumatoid arthritis and other rheumatic disorders. *Journal of Clinical Pathology*. 1996;49(10):824-8.

59. Hoffman RW, O'Sullivan FX, Schafermeyer KR, Moore TL, Roussell D, Watson-Mckown R, Kim MF, and Wise KS. Mycoplasma infection and rheumatoid arthritis. Analysis of their relationship using immunoblotting and an ultrasensitive polymerase chain reaction detection method. *Arthritis & Rheumatism*. 1997;40(7):1219-28.

60. Liao F, Li Z, Wang Y, Shi B, Gong Z, and Cheng X. Porphyromonas gingivalis may play an important role in the pathogenesis of periodontitis-associated rheumatoid arthritis. *Med Hypotheses*. 2009;72(6):732-5.

61. Wegner N, Wait R, Sroka A, Eick S, Nguyen KA, Lundberg K, Kinloch A, Culshaw S, Potempa J, and Venables PJ. Peptidylarginine deiminase from Porphyromonas gingivalis citrullinates human fibrinogen and alpha-enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis .*Arthritis Rheum*. 2010;62(9):2662-72.

62. Mikuls TR, Payne JB, Reinhardt RA, Thiele GM, Maziarz E, Cannella AC, Holers VM, Kuhn KA, and O'Dell JR. Antibody responses to Porphyromonas gingivalis (P. gingivalis) in subjects with rheumatoid arthritis and periodontitis. *Int Immunopharmacol*. 2009;9(1):38-42.

63. Rashid T, Leirisalo-Repo M, Tani Y, Hukuda S, Kobayashi S, Wilson C, Bansal S, and Ebringer A. Antibacterial and antipeptide antibodies in Japanese and Finnish patients with rheumatoid arthritis .*Clin Rheumatol*. 2004;23(2):134-41.

64. Hart H, and Marmion BP. Rubella virus and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1977;36(1):3-12.

65. Uysal H, Nandakumar KS, Kessel C, Haag S, Carlsen S, Burkhardt H, and Holmdahl R. Antibodies to citrullinated proteins: molecular interactions and arthritogenicity. *Immunol Rev*. 2010;233(1):9-33.

66. Vossenaar E, and van Venrooij W. Citrullinated proteins: sparks that may ignite the fire in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2004;6(3):107-11.

67. Hill JA, Southwood S, Sette A, Jevnikar AM, Bell DA, and Cairns E. Cutting edge: the conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis-associated HLA-DRB1*0401 MHC class II molecule. *J Immunol*. 2003;171(2):538-41.

68. Hill JA, Bell DA, Brintnell W, Yue D, Wehrli B, Jevnikar AM, Lee DM, Hueber W, Robinson WH, and Cairns E. Arthritis induced by posttranslationally modified (citrullinated) fibrinogen in DR4-IE transgenic mice. *J Exp Med*. 2008;205(4):967-79.

69. Feitsma AL, van der Voort EI, Franken KL, el Bannoudi H, Elferink BG, Drijfhout JW, Huizinga TW, de Vries RR, Toes RE, and Ioan-Facsinay A. Identification of citrullinated vimentin peptides as T cell epitopes in HLA-DR4-positive patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2010;62(1):117-25.

70. Kuhn KA, Kulik L, Tomooka B, Braschler KJ, Arend WP, Robinson WH, and Holers VM. Antibodies against citrullinated proteins enhance tissue injury in experimental autoimmune arthritis. *J Clin Invest*. 2006;116(4):961-73.

71. Nakken B, Munthe LA, Konttinen YT, Sandberg AK, Szekanecz Z, Alex P, and Szodoray P. B-cells and their targeting in rheumatoid arthritis--current concepts and future perspectives. *Autoimmun Rev*. 2011;11(1):28-34.

72. Lundberg K, and Venables PJ. Epitope spreading in animal models: array of hope in rheumatoid arthritis and multiple sclerosis. *Arthritis Res Ther*. 2008;10(6):122.

73. Klareskog L, Malmstrom V, Lundberg K, Padyukov L, and Alfredsson L. Smoking, citrullination and genetic variability in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Semin Immunol*. 2011;23(2):92-8.

74. Salehi I, Khazaeli S, and Khak M. Early diagnosis of rheumatoid arthritis: an introduction to the newly designed Iran Criteria for Rheumatoid Arthritis. *Rheumatol Int*. 2012:1-6.

75. van Venrooij W, and Pruijn G. An important step towards completing the rheumatoid arthritis cycle. *Arthritis Res Ther*. 2008;10(5):117.

76. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS ,Healey LA, Kaplan SR, Liang MH, Luthra HS, and et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1988;31(3):315-24.

77. van der Helm-van Mil AH, Detert J, le Cessie S, Filer A, Bastian H, Burmester GR, Huizinga TW, and Raza K. Validation of a prediction rule for disease outcome in patients with recent-onset undifferentiated arthritis: moving toward individualized treatment decision-making. *Arthritis Rheum*. 2008;58(8):2241-7.

78. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, Birnbaum NS, Burmester GR, Bykerk VP, Cohen MD, Combe B, Costenbader KH, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Hazes JM, Hobbs K, Huizinga TW, Kavanaugh A, Kay J, Kvien TK, Laing T, Mease P, Menard HA, Moreland LW, Naden RL, Pincus T, Smolen JS, Stanislawska-Biernat E, Symmons D, Tak PP, Upchurch KS, Vencovsky J, Wolfe F, and Hawker G. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(9):1580-8.

79. McCance D. Papillomaviruses. Principles and Practice of Clinical Virology: John Wiley & Sons, Ltd; 2009. p. 807-22.

80. Kiyono T, Adachi A, and Ishibashi M. Genome organization and taxonomic position of human papillomavirus type 47 inferred from its DNA sequence. *Virology*. 1990;177(1):401-5.

81. King AMQ, Lefkowitz E, Adams MJ, and Carstens EB. Family - Papillomaviridae. In: King AMQ, et al., editors. Virus Taxonomy. San Diego: Elsevier; 2012. p. 235-48.

82. Adachi A, Kiyono T, Hayashi Y, Ohashi M, and Ishibashi M. Detection of human papillomavirus (HPV) type 47 DNA in malignant lesions from epidermodysplasia verruciformis by protocols for precise typing of related HPV DNAs. *J Clin Microbiol*. 1996;34(2):369-75.

83. Antonsson A. Review: Antibodies to cutaneous human papillomaviruses. *J Med Virol*. 2012;84(5):814-22.

84. Fernandes JV, and Fernandes TA. Human Papillomavirus: Biology and Pathogenesis. In: Broeck DV, editor. Human Papillomavirus and Related Diseases - From Bench to Bedside - A Clinical Perspective: InTech; 2012. p. 3-40.

85. Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, and van Venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *The Journal of Clinical Investigation*. 1998;101(1):273-81.

86. Lee AN, Beck CE, and Hall M. Rheumatoid factor and anti-CCP autoantibodies in rheumatoid arthritis: a review. *Clin Lab Sci*. 2008;21(1):15-8.

87. Aggarwal R, Liao K, Nair R, Ringold S, and Costenbader KH. Anti-citrullinated peptide antibody assays and their role in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2009;61(11):1472-83.

88. Kitahara K, Takagi K, Kusunoki Y, Nishio S, Nozaki T, Inomata H, Takei M, Sawada S, and Kawai S. Clinical value of second- and third-generation assays of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(7):1059-60.

89. Shidara K, Inoue E, Tanaka E, Hoshi D, Seto Y, Nakajima A, Momohara S, Taniguchi A, and Yamanaka H. Comparison of the second and third generation anti-cyclic citrullinated peptide antibody assays in the diagnosis of Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. 2011;31(5):617-22.

90. dos Anjos LM, Pereira IA, d 'Orsi E, Seaman AP, Burlingame RW, and Morato EF. A comparative study of IgG second- and third-generation anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) ELISAs and their combination with IgA third-generation CCP ELISA for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2009;28(2):153-8.

91. Block DR, Jenkins SM, Dalenberg DA, Balsanek JG, Snyder MR, and Saenger AK. Analytical and clinical comparison of anti-CCP assays with rheumatoid factor for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta*. 2012;413(11-12):1015-7.

92. Wyness SP, La'ulu SL, Hunsaker JJ, Tebo AE, and Roberts WL. Performance characteristics of three random access cyclic citrullinated peptide antibody assays. *Clin Chim Acta*. 2010;411(5-6):428-32.

93. Snijders GF, Broeder AA, Bevers K, Jeurissen ME, van Eerd JE, and van den Hoogen FH. Measurement characteristics of a new rapid anti-CCP2 test compared to the anti-CCP2 ELISA. *Scand J Rheumatol*. 2008.4-151:(2)37;

94. Clyne B, and Olshaker JS. The C-reactive protein. *J Emerg Med*. 1999;17(6):1019-25.

95. Ferrer A, Fernandez ME, and Nazabal M. Overview on HLA and DNA typing methods. *Biotccnol Aplicada*. 2005;22(2):91-10 I.

96. Little AM. An Overview of HLA Typing for Hematopoietic Stem Cell Transplantation. In: Beksac M, editor. Bone Marrow and Stem Cell Transplantation: Humana Press; 2007. p. 35-49.

97. Middleton D, and Williams F. PCR-Sequence-Specific Oligonucleotide Probe Typing for HLA-A, -B ,and -DR. In: Powis SH, Vaughan RW, editors. MHC Protocols: Humana Press; 2003. p. 67-112.

98. Bontadini A. HLA techniques: Typing and antibody detection in the laboratory of immunogenetics. *Methods*. 2012(0.(

99. Middelton D. HLA Typing from Serology to Sequencing Era. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2005;4(2):53-66.

100. Bunce M. PCR-Sequence-Specific Primer Typing of HLA Class I and Class II Alleles. In: Powis SH, Vaughan RW, editors. MHC Protocols: Humana Press; 2003. p. 143-71.

101. Holtzhauer M. Immunochemical Protocols. Basic Methods for the Biochemical Lab: Springer Berlin Heidelberg; 2006. p. 129-60.

102. Eguchi S, and Matsuura M. Testing the Hardy-Weinberg Equilibrium in the HLA System. *Biometrics*. 1990;46(2):415-26.

103. Matsuura M ,and Eguchi S. Estimation of gene frequency and test for Hardy-Weinberg equilibrium in the HLA system. *Environ Health Perspect*. 1990;87:149-55.

104. Lancaster AK, Single RM, Solberg OD, Nelson MP, and Thomson G. PyPop update - a software pipeline for large-scale multilocus population genomics. *Tissue Antigens*. 2007;69 Suppl 1:192-7.

105. Guo SW, and Thompson EA. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*. 1992;48(2):361-72.

106. Agresti A. Inference for Contingency Tables. Categorical Data Analysis: John Wiley & Sons, Inc.; 2003. p. 70-114.

107. Union A, Meheus L, Humbel RL, Conrad K, Steiner G, Moereels H, Pottel H, Serre G, and De Keyser F. Identification of citrullinated rheumatoid arthritis-specific epitopes in natural filaggrin relevant for antifilaggrin autoantibody detection by line immunoassay. *Arthritis Rheum*. 2002;46(5):1185-95.

108. Pratesi F, Tommasi C, Anzilotti C, Chimenti D, and Migliorini P. Deiminated Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 is a target of anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006;54(3):733-41.

109. Zhao Y, Tian X, and Li Z. Prevalence and clinical significance of antibodies to citrullinated fibrinogen (ACF) in Chinese patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2007;26(9):1505-12.

110. Halvorsen EH, Pollmann S, Gilboe IM, van der Heijde D, Landewe R, Odegard S, Kvien TK, and Molberg O. Serum IgG antibodies to peptidylarginine deiminase 4 in rheumatoid arthritis and associations with disease severity. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(3):414-7.

111. Newton JL, Harney SM, Wordsworth BP, and Brown MA. A review of the MHC genetics of rheumatoid arthritis. *Genes Immun*. 2004;5(3):151-7.

112. Dhaouadi T, Sfar I, Abdelmoula L, Bardi R, Jendoubi-Ayed S, Makhlouf M, Aouadi H, Ben Abdallah T, Zouari R, Ayed K, and Lakhoua-Gorgi Y. Association of specific amino acid sequence (QRRAA) of HLA-DRB1*0405 with rheumatoid arthritis in a Tunisian population. *Arch Inst Pasteur Tunis*. 2010;87(1-2):53-9.

113. Balsa A, Cabezon A, Orozco G, Cobo T, Miranda-Carus E, Lopez-Nevot MA, Vicario JL, Martin-Mola E, Martin J, and Pascual-Salcedo D. Influence of HLA DRB1 alleles in the susceptibility of rheumatoid arthritis and the regulation of antibodies against citrullinated proteins and rheumatoid factor. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(2):R62.

114. Hajeer AH, Dababneh A, Makki RF, Thomson W, Poulton K, González-Gay MA, García-Porrúa C, Mattey DL, and Ollier WER. Different gene loci within the HLA-DR and TNF regions are independently associated with susceptibility and severity in Spanish rheumatoid arthritis patients. *Tissue Antigens*. 2000;55(4):319-25.

115. Al-Swailem R, Al-Rayes H, Sobki S, Arfin M, and Tariq M. HLA-DRB1 association in Saudi rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol Int*. 2006;26(11):1019-24.

116. Delgado-Vega AM, and Anaya JM. Meta-analysis of HLA-DRB1 polymorphism in Latin American patients with rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*. 2007;6(6):402-8.

117. Jun KR, Choi S-E, Cha C-H ,Oh H-B, Heo Y-S, Ahn H-Y, and Lee K-J. Meta-analysis of the Association between HLA-DRB1 Allele and Rheumatoid Arthritis Susceptibility in Asian Populations. *J Korean Med Sci*. 2007;22(6):973.

118. Bongi SM, Porfirio B, Rombola G, Palasciano A, Beneforti E, and Bianucci G. Shared-epitope HLA-DRB1 alleles and sex ratio in Italian patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2004;71(1):24-8.

119. Xue Y, Zhang J, Chen YM, Guan M, Zheng SG, and Zou HJ. The HLA-DRB1 shared epitope is not associated with antibodies against cyclic citrullinated peptide in Chinese patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 2008;37(3):183-7.

120. Hughes LB, Morrison D, Kelley JM, Padilla MA, Vaughan LK, Westfall AO, Dwivedi H, Mikuls TR, Holers VM, Parrish LA, Alarcon GS, Conn DL, Jonas BL, Callahan LF, Smith EA, Gilkeson GS, Howard G, Moreland LW, Patterson N, Reich D, and Bridges SL, Jr. The

HLA-DRB1 shared epitope is associated with susceptibility to rheumatoid arthritis in African Americans through European genetic admixture. *Arthritis Rheum*. 2008;58(2):349-58.

121. Stark K, Rovensky J, Blazickova S, Grosse-Wilde H, Ferencik S, Hengstenberg C, and Straub RH. Association of common polymorphisms in known susceptibility genes with rheumatoid arthritis in a Slovak population using osteoarthritis patients as controls. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(3):R70.

122. Reviron D, Foutrier C, Guis S, Mercier P, and Roudier J. DRB1 alleles in polymyalgia rheumatica and rheumatoid arthritis in southern France. *Eur J Immunogenet*. 2001;28(1):83-7.

123. Ucar F, Karkucak M, Alemdaroglu E, Capkin E, Yucel B, Sonmez M, Tosun M, and Karaca A. HLA-DRB1 allele distribution and its relation to rheumatoid arthritis in eastern Black Sea Turkish population. *Rheumatol Int*. 2012;32(4):1003-7.

124. Laivoranta-Nyman S, Mottonen T, Hermann R, Tuokko J, Luukkainen R, Hakala M, Hannonen P, Korpela M, Yli-Kerttula U, Toivanen A, Ilonen J, and Group FI-RT. HLA-DR-DQ haplotypes and genotypes in Finnish patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2004;63(11):1406-12.

125. Usnayo MJ, Andrade LE, Alarcon RT, Oliveira JC, Silva GM, Bendet I, Burlingame R, Porto LC, and Pinheiro Gda R. Study of the frequency of HLA-DRB1 alleles in Brazilian patients with rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol*. 2011;51(5):474-83.

126. Atouf O, Benbouazza K, Brick C, Bzami F, Bennani N, Amine B, Hajjaj-Hassouni N, and Essakali M. HLA polymorphism and early rheumatoid arthritis in the Moroccan population. *Joint Bone Spine*. 2008;75(5):554-8.

127. Dayan İ, Tıkız C, Taneli F, Ulman C, Ulutaş G, and Tüzün Ç. Relationship Between Cyclic Citrullinated Peptide Antibodies Positivity and HLA-DRB1 Shared Epitope Alleles in Patients with Rheumatoid Arthritis in Turkey. *Türk Romatoid Artritli Hastalarda Siklik Sitrüline Peptit Antikor Pozitifliği ile HLA-DRB1 Ortak Epitop Alelleri Arasindaki İlişki*. 2010;25(1):12-8.

128. Sandoughi M, Fazaeli A, Bardestani G, and Hashemi M. Frequency of HLA-DRB1 alleles in rheumatoid arthritis patients in Zahedan, southeast Iran. *Ann Saudi Med*. 2011;31(2):171-3.

129. del Rincon I, and Escalante A. HLA-DRB1 alleles associated with susceptibility or resistance to rheumatoid arthritis, articular deformities, and disability in Mexican Americans. *Arthritis Rheum*. 1999;42(7):1329-38.

130. Castro F, Acevedo E, Ciusani E, Angulo JA, Wollheim FA, and Sandberg-Wollheim M. Tumour necrosis factor microsatellites and HLA-DRB1*, HLA-DQA1*, and HLA-DQB1* alleles in Peruvian patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2001;60(8):791-5.

131. Kinikli G, Ates A, Turgay M, Akay G, Kinikli S, and Tokgoz G. HLA-DRB1 genes and disease severity in rheumatoid arthritis in Turkey. *Scand J Rheumatol*. 2003;32(5):277-80.

132. Balsa A, Minaur NJ, Pascual- Salcedo D, McCabe C, Balas A, Fiddament B, Vicario JL, Cox NL, Martín- Mola E, and Hall ND. Class II MHC antigens in early rheumatoid arthritis in Bath (UK) and Madrid (Spain). *Rheumatology*. 2000;39(8):844-9.

133. Louzada-Júnior P, Freitas MVC, Oliveira RDR, Deghaide NHS, Conde RA, Bertolo MB, and Donadi EA. A majority of Brazilian patients with rheumatoid arthritis HLA-DRB1 alleles carry both the HLA-DRB1 shared epitope and anti-citrunillated peptide antibodies. *Braz J Med Biol Res*. 2008;41:493-9.

134. Griffiths B, Situnayake RD, Clark B, Tennant A, Salmon M, and Emery P. Racial origin and its effect on disease expression and HLA-DRB1 types in patients with rheumatoid arthritis: a matched cross-sectional study. *Rheumatology (Oxford)*. 2000;39(8):857-64.

135. Yukioka M, Wakitani S ,Murata N, Toda Y, Ogawa R, Kaneshige T, and Ochi T. Elderly-onset rheumatoid arthritis and its association with HLA-DRB1 alleles in Japanese. *Br J Rheumatol*. 1998;37(1):98-101.

136. Kong KF, Yeap SS, Chow SK, and Phipps ME. HLA-DRB1 genes and susceptibility to rheumatoid arthritis in three ethnic groups from Malaysia. *Autoimmunity*. 2002;35(4):235-9.

137. Lee HS, Lee KW, Song GG, Kim HA, Kim SY, and Bae SC. Increased susceptibility to rheumatoid arthritis in Koreans heterozygous for HLA-DRB1*0405 and .0901* *Arthritis Rheum*. 2004;50(11):3468-75.

138. Liu SC, Chang TY, Lee YJ, Chu CC, Lin M, Chen ZX, Liu HF, Dang CW, Chang SC, Lee CS, Chen TL, and Huang CH. Influence of HLA-DRB1 genes and the shared epitope on genetic susceptibility to rheumatoid arthritis in Taiwanese. *J Rheumatol*. 2007;34(4):674-80.

139. Hameed K, Bowman S, Kondeatis E, Vaughan R, and Gibson T. The association of HLA-DRB genes and the shared epitope with rheumatoid arthritis in Pakistan. *Br J Rheumatol*. 1997;36(11):1184-8.

140. Arias MV, Domingues EV, Lozano RB, Flores CV, Peralta MM, and Salinas CZ. Study of class I and II HLA alleles in 30 ecuadorian patients with rheumatoid arthritis compared with alleles from healthy and affected subjects with other rheumatic diseases. *Rev Bras Reumatol*. 2010;50(4):423-33.

141. Ruiz-Morales JA, Vargas-Alarcon G, Flores-Villanueva PO, Villarreal-Garza C, Hernandez-Pacheco G, Yamamoto-Furusho JK, Rodriguez-Perez JM, Perez-Hernandez N, Rull M, Cardiel MH, and Granados J. HLA-DRB1 alleles encoding the "shared epitope" are associated with susceptibility to developing rheumatoid arthritis whereas HLA-DRB1 alleles encoding an aspartic acid at position 70 of the beta-chain are protective in Mexican Mestizos. *Hum Immunol*. 2004;65(3):262-9.

142. Kazkaz L, Marotte H, Hamwi M, Angelique Cazalis M, Roy P, Mougin B, and Miossec P. Rheumatoid arthritis and genetic markers in Syrian and French populations: different effect of the shared epitope. *Ann Rheum Dis*. 2007;66(2):195-201.

143. Gorman JD, and Criswell LA. The shared epitope and severity of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2002;28(1):59-78.

144. Gorman JD, Lum RF, Chen JJ, Suarez-Almazor ME, Thomson G, and Criswell LA. Impact of shared epitope genotype and ethnicity on erosive disease: a meta-analysis of 3,240 rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum*. 2004;50(2):400-12.

145. van Gaalen FA, van Aken J, Huizinga TW, Schreuder GM, Breedveld FC, Zanelli E, van Venrooij WJ, Verweij CL, Toes RE, and de Vries RR. Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCPs) influences the severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2004;50(7):2113-21.

146. Salvarani C, Macchioni PL, Mantovani W, Bragliani M, Collina E, Cremonesi T, Battistel B, and Boiardi L. HLA-DRB1 alleles associated with rheumatoid arthritis in Northern Italy: correlation with disease severity. *Br J Rheumatol*. 1998;37(2):165-9.

147. Mewar D, Marinou I, Coote AL, Moore DJ, Akil M, Smillie D, Dickson MC, Binks MH , Montgomery DS, and Wilson AG. Association between radiographic severity of rheumatoid arthritis and shared epitope alleles: differing mechanisms of susceptibility and protection. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(7):980-3.

148. Fries JF, Wolfe F, Apple R, Erlich H ,Bugawan T, Holmes T, and Bruce B. HLA-DRB1 genotype associations in 793 white patients from a rheumatoid arthritis inception cohort: frequency, severity, and treatment bias. *Arthritis Rheum*. 2002;46(9):2320-9.

149. Kim HY, Min JK, Yang HI, Park SH, Hong YS, Jee WH, Lee SH, Cho CS, Kim TG, and Han H. The impact of HLA-DRB1*0405 on disease severity in Korean patients with seropositive rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol*. 1997;36(4):440-3.

150. Boki KA, Drosos AA, Tzioufas AG, Lanchbury JS, Panayi GS ,and Moutsopoulos HM. Examination of HLA-DR4 as a severity marker for rheumatoid arthritis in Greek patients. *Ann Rheum Dis*. 1993;52(7):517-9.

151. Chun-Lai T, Padyukov L, Dhaliwal JS, Lundstrom E, Yahya A, Muhamad NA, Klareskog L, Alfredsson L, Larsson PT, Murad S, and Malaysian Epidemiological Investigation of Rheumatoid Arthritis Study G. Shared epitope alleles remain a risk factor for anti-citrullinated proteins antibody (ACPA)--positive rheumatoid arthritis in three Asian ethnic groups. *PLoS One*. 2:(6)6;011e21069.

152. Besenyei T, Gyetvai A, Szabo Z, Fekete A, Kapitany A, Szodoray P, Laki J, Soos L, Sipka S, Szegedi G, Lakos G, and Szekanecz Z. Associations of HLA-shared epitope, anti-citrullinated peptide antibodies and lifestyle-related factors in Hungarian patients with rheumatoid arthritis: data from the first Central-Eastern European cohort. *Joint Bone Spine*. 2011;78(6):652-3.

153. UÇAr F, ÇApkin E, Karkucak M, YÜCel B, SÖNmez M, Alver A, Kaklikkaya N, Tosun M, AlemdaroĞLu E, and Solak M .Associations of HLA-DRB1 alleles with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis in northern east part of Turkey. *International Journal of Rheumatic Diseases*. 2011.

154. Nijenhuis S ,Zendman AJ, Vossenaar ER, Pruijn GJ, and vanVenrooij WJ. Autoantibodies to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis: clinical performance and biochemical aspects of an RA-specific marker. *Clin Chim Acta*. 2004;350(1-2):17-34.

155. Vossenaar E, Zendman A, and van Venrooij W. Citrullination, a possible functional link between susceptibility genes and rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2004;6(1):1-5.

156. El-Gabalawy HS, Robinson DB, Daha NA, Oen KG, Smolik I, Elias B, Hart D, Bernstein CN, Sun Y, Lu Y, Houwing-Duistermaat JJ, and Siminovitch KA. Non-HLA genes modulate the risk of rheumatoid arthritis associated with HLA-DRB1 in a susceptible North American Native population. *Genes Immun*. 2011;12(7):568-74.

157. Choi SJ, Rho YH, Ji JD ,Song GG, and Lee YH. Genome scan meta-analysis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(2):166-70.

158. Liu C, Ackerman HH, and Carulli JP. A genome-wide screen of gene-gene interactions for rheumatoid arthritis susceptibility. *Hum Genet*.2011;129(5):473-85.

159. Deighton C, and Criswell LA. Recent advances in the genetics of rheumatoid arthritis. *Curr Rheumatol Rep*. 2006;8(5):394-400.

160. MacKay K, Eyre S, Myerscough A, Milicic A, Barton A, Laval S, Barrett J, Lee D, White S, John S ,Brown MA, Bell J, Silman A, Ollier W, Wordsworth P, and Worthington J. Whole-genome linkage analysis of rheumatoid arthritis susceptibility loci in 252 affected sibling pairs in the United Kingdom. *Arthritis Rheum*. 2002;46(3):632-9.

قبول النشر في مجلة التشخيص المخبري

Syrian Clinical Laboratory Association

هيئة مخابر التحاليل الطبية في سورية

Ref: الرقم: ٨٢٥

Date: التاريخ: ٢٠١٢/١/٥

مجلة التشخيص المخبري
ISSN 1814-411X

د. جميل مراد ، أ. د. فوزة منعم
كلية الصيدلة – جامعة دمشق

تحية طيبة:

يسرنا إعلامكم بأنه قد تم تحكيم وقبول البحث المرسل من قبلكم بتاريخ ٢٠١١/١١/١٥ والذي يحمل العنوان:

تواتر ألائل HLA – DRB 1 لدى مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي في سورية
Frequency of HLA – DRB 1 Alleles in Syrian Rheumatoid Arthritis Patients

للنشر في مجلة التشخيص المخبري، التي تصدرها هيئة مخابر التحاليل الطبية في سورية، ونعلمكم بأن بحثكم سينشر في أعداد عام ٢٠١٢.
إن هيئة وأمانة تحرير مجلة التشخيص المخبري تشكر لكم مساهمتكم في العمل على إغناء هذه المجلة بأبحاثكم القيمة.

ومع أطيب تحياتنا

دمشق في ٢٠١١/١٢/١٨

رئيس تحرير مجلة التشخيص المخبري

الاستاذ الدكتور أميل شاهين

جادة صالح العلي – المزرعة – صندوق بريد ٧٦٧١ – دمشق – سورية
Tel.: +963 11 446 4945 - Fax : +963 11 446 98 999 - E-mail: scla@scla.org.sy - http://www.scla.org.sy

Revista Brasileira de Reumatologia قبول النشر في
The Brazilian Journal of Rheumatology

Revista Brasileira de Reumatologia

Av. Brigadeiro Luís Antônio, 2.466, conjs. 93-94
CEP 01402-000 - São Paulo - SP - Brasil
Fone/F ax: 55-11-3289-7165
Contato - rbreumatol@terra.com.br

São Paulo, sexta-feira, 8 de junho de 2012

Dear Dr.Jamil Mourad

Referring to the flux code: 597
Classification: Original Article

We have the pleasure to inform that the paper 'Alelo HLA-DRB1 Associação com Artrite Reu matóide susceptibilidade e gravidade na Síria' was Pre-Approved by Editorial Board d RBR and it will be published soon. We reminded that some modifications can be requested until the publication of the article.

Thank you for submitting its paper in Revista Brasileira de Reumatologia.

Regards,

Paulo Louzada Jr e Max Victor Carioca
Editores(Publishers)

الملخص

المقدمة: ينتشر التهاب المفاصل الروماتويدي في جميع المحافظات السورية لكن دون وجود أي دراسة عن عوامل الاختطار الجينية والفيروسية المؤهبة.

أهداف البحث: هدفت دراستنا إلى تقصي مستضد فيروس الورم الحليمي HPV-47 $E2_{345–362}$ والنمط النسيجي HLA-DRB1 كعاملين مؤهبين للإصابة بالتهاب المفاصل الروماتويدي في سورية، أملاً في استخدامهما في التشخيص المبكر والوقاية من المرض

المواد و الطرائق: هذه دراسة حالة-شاهد case-control study لمرضى التهاب المفاصل الروماتويدي الذين راجعوا مستشفيات حكومية و جامعية في مدينة دمشق في الفترة ما بين 2010/01/02 و2011/08/30. أجري التنميط الجيني لـ 96 مريضاً و 200 من الشواهد الأصحاء بطريقة تفاعل البوليميراز التسلسلي مع مَشْرَع محدد التتالي PCR-SSP، والتقصي عن وجود أضداد مستضد فيروس الورم الحليمي HPV-47 $E2_{345–362}$ بطربقة الـ ELISA.

النتائج: أظهرت نتائجنا قيمة تشخيصية يُعَوَّل عليها للمستضد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل بحساسية 69% ونوعية 95%. أظهر كل من HLA-DRB1 *01، و*04، و*10 تواتراً مرتفعاً عند المرضى، بينما كان HLA-DRB1 *11 و*13 أكثر تواتراً عند الشواهد الأصحاء.

التوصيات: الإستفادة من أضداد HPV-47 $E2_{345–362}$ المسترل في التشخيص التهاب الـ RA، اعتماد أنماط الـ HLA-DRB1 *01، و*04، و*10 كعوامل اختطار في مجتمعنا والإستعانة بها في التنبؤ المبكر للمرض.

العنوان المختصر:

دور HLA-DRB1 وHPV-47 المؤهب للـ RA

الكلمات المفتاحية:

التهاب المفاصل الروماتويدي، عوامل اختطار، HLA DRB1، HPV-47،

Abstract

Introduction: Rheumatoid arthritis is distributed in all Syrian areas, but with the absence of any study on the genetic or viral risk factors.

Aim: Our study aimed to determine the association of HPV-47 $E2_{345–362}$ antigen and HLA-DRB1 alleles with the susceptibility of rheumatoid arthritis in Syria.

Materials and Methods: Ninety six RA patients and two hundred healthy controls from Syria were genotyped using polymerase chain reaction with sequence-specific primer (PCR-SSP). The ELISA was used to detect the antibodies against HPV-47 $E2_{345–362}$ antigen in the sera of both the patients and control group.

Results: Our results showed a reliable diagnostic value for HPV-47 $E2_{345–362}$ antigen with 69% sensitivity and 95% specificity. The HLA-DRB1*01, *04, and *10 frequencies showed a strong association with the disease susceptibility, while the frequencies of HLA-DRB1*11, and *13 were significantly lower in RA patients than the controls

Conclusion: Detection of anti-citrullinated $E2_{345–362}$ antibodies may be useful in the diagnosis of RA. Our results indicate that HLA-DRB1*01, *04, and *10 alleles are related with RA, while HLA-DRB1*11 and *13 are protective against RA in our population.

Running Title

Susceptible Role of HLA-DRB1 and HPV-47 in RA

Key Words

Rheumatoid Arthritis, Risk factors, HLA-DRB1, HPV-47